

EIWITSTOFWISSELING
BIJ
LEVERCIRRHOSE

PROTEIN TURNOVER IN PATIENTS WITH CIRRHOSIS
OF THE LIVER

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE
GENEESKUNDE
AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT ROTTERDAM
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS
PROF. DR. M. W. VAN HOF
EN VOLGENS BESLUIT VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN.
DE OPENBARE VERDEDIGING ZAL PLAATSVINDEN OP
WOENSDAG 20 JUNI 1984 TE 15.45 UUR

DOOR

GERHARDUS ROELOF SWART

GEBOREN TE BUSSUM



krips repro meppel

PROMOTOR: PROF. DR. M. FRENKEL

Voor mijn ouders
Voor Susanna,
Joost en Arlette

INHOUDSOPGAVE.

Hoofdstuk	I	Inleiding	9
Hoofdstuk	II	Achtergronden	15
Hoofdstuk	III	Methoden	33
Hoofdstuk	IV	Resultaten van het balansonderzoek	61
Hoofdstuk	V	Effecten van eiwit aangevuld met vertakte-keten aminozuren	87
Hoofdstuk	VI	Onderzoek naar de snelheid van eiwitomzet	95
Hoofdstuk	VII	Bespreking en conclusies	113
Hoofdstuk	VIII	Samenvatting	127
		Summary	131
Hoofdstuk	IX	Addendum	135
		Literatuurreferenties	157
		Verantwoording	169
		Curriculum Vitae	171

HOOFDSTUK I

INLEIDING

Dit proefschrift handelt over de stikstofhuishouding bij patienten met levercirrhose. Het idee dit onderzoek te gaan doen, ontstond in de kliniek door waarneming van problemen bij de behandeling van patienten. Er is gestreefd de problematiek in de klinische omstandigheden verder te bestuderen. Technieken die daarvoor nodig bleken, zijn toegepast of overgenomen en aangepast. Het uiteindelijke doel was wegen te vinden om de behandeling van de patienten te verbeteren. Dit is ten dele gelukt en enkele van de bevindingen hebben geleid tot aanpassing van het tot dan toe gevoerde beleid. Andere bevindingen leidden tot meer inzicht - en bovendien nog meer vragen - en zullen mogelijk in de toekomst tot het verder ontwikkelen van de therapie bijdragen.

Wanneer men een patient met levercirrhose onderzoekt dan blijkt vaak de spiermassa te zijn afgenomen. Dit is meestal het duidelijkst te zien aan de spieren rond de schoudergordel doch ook andere spiergroepen kunnen zijn aangedaan. Dit fenomeen wordt soms verhuld doordat de vetmassa van het lichaam is toegenomen en de patient op het eerste oog een welvarende indruk maakt. Aan het lichaamsgewicht valt de afname van de spiermassa bovendien niet gemakkelijk waar te nemen door de toegenomen hoeveelheid extra- en intracellulair vocht die men bij cirrhose vindt.

Een ten opzichte van de totale lichaamsmassa afgenomen spiermassa is een ongelukkig bezit. Bij alle activiteiten van het dagelijks leven merkt de patient dat hij snel vermoeid is, een veel gehoorde klacht. Bovendien is de spier in het lichaam de voornaamste voorraadplaats van eiwit. Een afname van de spiermassa houdt een afname van de eiwitreserve in (19). Daardoor zal het

lichaam minder weerstand hebben in situaties waarin een beroep op de eiwitvoorraden moet worden gedaan. Dit is het geval tijdens infecties en eens te meer bij operaties (86). Het lijkt dus zinvol te streven naar correctie van deze afwijkingen en te pogen de eiwitmassa te herstellen. Aangezien de oorzaak van de afname van de spiermassa niet duidelijk is, kan men een eenvoudige therapie niet a priori bedenken. De meest voor de hand liggende gedachte evenwel is de patient een eiwitrijk dieet te adviseren in de hoop hiermee de voorraden aan te vullen.

Toch blijkt deze weg veelal niet begaanbaar. Eén van de ernstige complicaties van levercirrhose is het ontstaan van encephalopathie. Hieronder verstaat men een - voor zover thans bekend reversibele - verstoring van de functie van het centrale zenuwstelsel. Verschillende graden van encephalopathie zijn waarneembaar variërend van een lichte verwardheid, concentratiestoornissen, slaperigheid op ongelukkige tijdstippen overdag en slapeloosheid 's nachts, tot ernstige bewustzijnsstoornissen en coma toe.

De oorzaak, respectievelijk de oorzaken hiervan zijn maar ten dele bekend. Wel is het duidelijk dat bij het ontstaan van encephalopathie veelal metaboliëten uit de stikstofhuishouding zijn betrokken (101). Uit klinische waarnemingen is gebleken dat het bewustzijn van de patient met encephalopathie kan verbeteren door eiwitbeperking in het dieet. Dit is dan ook een essentieel onderdeel van de therapie van encephalopathie. Heeft men met een chronische vorm van encephalopathie te doen, dan zal men langdurig eiwitbeperking moeten opleggen (32,63,69,115,142).

Deze eiwitbeperking doorkruist dan geheel en al de wens de patient een eiwitrijk dieet te geven, maar moet toch op klinische gronden vaak prioriteit krijgen.

Dit therapeutische dilemma blijkt in de literatuur betrekkelijk weinig aandacht te hebben gekregen. Met name zijn er maar weinig onderzoeken gedaan om de stikstofbehoefte van patienten met levercirrhose te bepalen.

In een onderzoek uit 1954 (39) werd gevonden dat de meeste patienten met levercirrhose in een positieve stikstofbalans zijn bij eiwitopname van 56 gram per dag. In de meeste literatuur wordt gesteld dat de stikstofbehoefte van patienten met cirrhose niet afwijkt van die van gezonde mensen (81). Van het langdurig geven van een sterk eiwitbeperkt dieet zou men eigenlijk geen problemen zien (116).

In het Dijkzigt Ziekenhuis was het gebruikelijk patienten vanwege doorgemaakte encephalopathie langdurig te behandelen met een dieet met 40 gram eiwit per dag. Ook anderen kozen een dergelijke dosering. Dit zou echter voor sommige patienten deficient kunnen zijn en tot het verlies van spiermassa kunnen bijdragen. Deze gedachte gaf de aanzet het onderzoek naar de stikstofbehoefte bij patienten te beginnen.

De motivatie voor dit onderzoek werd verder versterkt door de in 1976 beschreven hypothese (123) dat encephalopathie kon worden versterkt of zelfs veroorzaakt door een katabole toestand in het lichaam. Men stelde dat encephalopathie verklaard kan worden door verstoring van neurotransmitters in de hersenen (34), een tekort aan het normaal voorkomende noradrenaline, een overmaat aan het eveneens normaal voorkomende serotonine als ook de aanwezigheid van normaal niet voorkomende 'valse' neurotransmitters zoals octopamine en phenylaethanolamine. Deze verstoring zou mede veroorzaakt worden door een verandering van het aminozuurpatroon in het bloed (35). Dit verstoorde aminozuurpatroon nu werd gezien als een gevolg van een katabolie (123). De implicatie was dat herstel van de anabole toestand en correctie van het verstoorde aminozuurpatroon nodig was voor herstel van encephalopathie als ook voor de preventie ervan (123). Eerder was al beschreven dat parenterale voeding met een aminozuurmengsel met extra veel aminozuren met vertakte ketens tot herstel van encephalopathie en tot een positieve stikstofbalans leidde (33).

Bovenbeschreven hypothese (123) maakte de vraag naar de omstandigheden waaronder anabolie kan bestaan, en dus naar de minimale stikstofbehoefte, eens te meer van belang.

Begonnen werd stikstofbalansonderzoek te verrichten bij een achttal patienten met levercirrhose. Uit de gevonden balansgegevens kon de minimale stikstofbehoefte worden berekend. De minimale stikstofbehoefte bij patienten met levercirrhose leek tamelijk hoog te zijn wanneer ze werden vergeleken met in de literatuur gevonden normale waarden (26,136).

Tijdens dit onderzoek ontstond de wens een techniek toe te passen die meer inzicht zou kunnen geven in de processen die zich in de stikstofhuishouding afspelen zowel tijdens de verwerking van een maaltijd als ook tijdens vasten. Ook werd behoefte gevoeld aan een techniek voor kortdurend onderzoek van de stikstofstofwisseling. Deze techniek zou het mogelijk moeten maken patienten en controlepersonen op een veilige wijze te onderzoeken en dat onderzoek zo

vaak als nodig te herhalen. Daarmee zou men dan verschillende dieten en voedingspatronen kunnen vergelijken.

Beide wensen konden worden vervuld door het toepassen van een methode die de turnover van stikstof meet en tegelijkertijd inzicht geeft in de snelheid van eiwitsynthese en -afbraak. Wanneer dit onderzoek werd uitgevoerd met stabiele isotopen dan was er geen stralingsgevaar en kon het in principe ongelimiteerd worden herhaald (129,131).

Een in de literatuur beschreven methode voor het meten van de eiwitturnover werd toegepast met minimale veranderingen (29).

Gecontroleerd werd eerst of aan de voorwaarden, die men moet stellen om deze methode te mogen toepassen, ook bij patienten met levercirrhose werd voldaan. Toen deze vraag bevestigend beantwoord was, werd een serie patienten en controlepersonen onderzocht.

De vragen die bij het in dit proefschrift beschreven onderzoek zijn gesteld en uitgewerkt kunnen als volgt worden omschreven:

1. Hoe is de stikstofbalans van patienten met levercirrhose wanneer zij routinegewijs behandeld worden met een 40 gram eiwit dieet ? Hoe verandert de balans op een dieet dat rijker is aan eiwit ?
2. Wat is de minimale stikstofbehoefte van patienten met een levercirrhose ?
3. Kan de stikstofbalans bij deze patienten verbeterd worden - en kan daarmee de stikstofbehoefte dalen - door eiwit te gebruiken dat met vertakte-keten aminozuren verrijkt is ?
4. Kan de stikstofbalans verbeterd worden - en kan daarmee de stikstofbehoefte dalen - door het aanbod van stikstof en calorieën meer over de dag te spreiden ?
5. Leidt een eiwitarm dieet tot verdere verstoring van het aminozuurpatroon in het bloed van de patient met levercirrhose ? Normaliseert dit patroon wanneer de stikstofbalans verbetert ?
6. Is er onder een eiwitarm dieet dat leidt tot een negatieve stikstofbalans een hogere graad van encephalopathie waarneembaar die zich herstelt wanneer patient met behulp van meer eiwit in het dieet in een positieve balans komt ?
7. Verbetert de encephalopathie van patienten met levercirrhose bij oraal gebruik van eiwit dat verrijkt wordt met aminozuren met vertakte-ketens ?
8. Is er een verschil tussen patienten met levercirrhose en controlepersonen in eiwitsynthese en eiwitafbraak wanneer beide groepen worden behandeld met een dieet dat per kg. lichaamsgewicht evenveel eiwit en calorieën bevat ?
9. Is er een verschil tussen patienten met levercirrhose en normale controlepersonen in eiwitsynthese en eiwitafbraak bij het geven van een eiwitarm dieet ?
10. Is er verschil tussen patienten met levercirrhose en normale controlepersonen in eiwitsynthese en eiwitafbraak tijdens vasten ?
11. Kan de betrekkelijk hoge minimale stikstofbehoefte om in stikstofevenwicht te blijven bij patienten met levercirrhose verklaard worden uit de verhouding tussen snelheid van eiwitsynthese en eiwitafbraak ?

HOOFDSTUK II.

ACHTERGRONDEN.

Eiwitstofwisseling

Eiwit is een belangrijke stof voor het lichaam, zowel voor de bouw als voor de functie ervan. De hoornlaag van de huid bestaat uit het eiwit keratine. Collageen, eveneens een structuureiwit, treft men aan in het bindweefsel; het geeft stevigheid aan de huid, aan de spieren, pezen en botten. In de spier treft men de eiwitten actine en myosine aan, die samen de spier het vermogen tot samentrekken geven. Actine komt bovendien in veel andere weefsels voor die eveneens het vermogen hebben samen te trekken. Ook in het bloed circuleren eiwitten; albumine is één van de belangrijkste daarvan. Het bepaalt daar onder meer de colloïd osmotische druk. Bovendien bindt het vele stoffen en is van belang voor het transport daarvan. Ook de antilichamen die men in bloed en in weefsels aantreft, en die daar de afweer van het individu verzorgen, zijn eiwitten. Een aantal hormonen, betrokken bij de regulering van de stofwisseling, heeft een eiwitstructuur. In de cellen van het lichaam tenslotte treft men eiwitten aan die daar als enzymen werken; de meeste stofwisselingsprocessen kunnen alleen met behulp van deze enzymen verlopen. Alle eiwitten worden in het lichaam zelf gesynthetiseerd; opname van intacte eiwitten door de darmen vindt in principe niet plaats.

Eiwitten zijn opgebouwd uit aminozuren. Voor een voldoende eiwitsynthese is regelmatige toevoer van aminozuren onontbeerlijk. Langs twee wegen komen aminozuren ter beschikking. In de eerste plaats komen ze vrij bij afbraak van eiwit van het lichaam zelf. Ze kunnen dan gebruikt worden voor inbouw in ander lichaamseiwit ("recycling"). Voorts komen aminozuren uit het voedsel ter beschikking. In het maagdarmkanaal wordt het genuttigde eiwit volledig tot aminozuren en peptiden afgebroken en in die vorm geresorbeerd. Omdat

hergebruik van aminozuren niet volledig efficiënt is, en er altijd verlies optreedt, is aanvoer van aminozuren via de darm onontbeerlijk. De aminozuren kunnen in twee categorieën worden ingedeeld, essentiële en niet essentiële aminozuren. Men bedoelt hiermee dat essentiële aminozuren niet in het lichaam zelf gesynthetiseerd kunnen worden, en dus als zodanig met het voedsel moeten worden opgenomen. Niet essentiële aminozuren daarentegen kunnen wel door het lichaam gevormd worden door een aminogroep van een aminozuur over te plaatsen op een andere stof die daardoor het karakter van een aminozuur krijgt. Niet alle aminozuren die men in het lichaam aantreft zijn betrokken bij de eiwitopbouw. Zo wordt ornithine bijvoorbeeld niet in eiwit ingebouwd; men treft het aan in levercellen waar het betrokken is bij de vorming van ureum. Sommige aminozuren worden in het lichaam veranderd nadat ze in eiwit zijn ingebouwd. Histidine kan na inbouw in contractiele spiereiwitten gemethyleerd worden tot 3-methylhistidine. Wanneer dan spiereiwit wordt afgebroken en het aminozuur 3-methylhistidine vrijkomt, is dit niet meer geschikt voor reutilisatie maar wordt uitgescheiden.

De rol van de lever bij de eiwitstofwisseling

De lever is nauw betrokken bij de stofwisseling van eiwit en aminozuren. Het bloed dat de via de darm opgenomen aminozuren naar de lichaamscellen vervoert, passeert eerst de lever. De lever zorgt ervoor dat niet alleen de totale hoeveelheid aminozuren in het bloed, maar ook de onderlinge verdeling van de verschillende aminozuren ("het aminozuurpatroon") nauwkeurig constant gehouden wordt. Dit houdt in dat een eventuele overmaat aan aminozuren wordt verwijderd door afbraak tot onder andere ureum. Ureum is een voor het lichaam ongevaarlijke stof die snel met de urine wordt uitgescheiden. Als het aminozuurpatroon wordt gereguleerd door in overmaat aanwezige aminozuren af te breken, dan kunnen de vrijkomende aminogroepen óf worden gebruikt voor de vorming van nieuwe, niet essentiële, aminozuren door transaminering, óf deze aminogroepen worden verder verwerkt tot ureum. Op de regel dat de aminozuurstofwisseling door de lever wordt gereguleerd bestaat een uitzondering: aminozuren waarvan de koolstofketen vertakt is (valine, leucine en isoleucine) worden voornamelijk in het spierweefsel afgebroken en gebruikt (48,94).

De betrokkenheid van de lever bij de eiwitstofwisseling gaat evenwel verder. Zo vindt in de lever synthese van vele eiwitten plaats, onder andere het in het bloed circulerend albumine.

Bovendien is de lever verantwoordelijk voor de verwerking van de bij de afbraak van aminozuren vrijkomende stikstofverbindingen. De stikstof bevindt zich dan meestal in de vorm van het voor het lichaam toxische ammoniak. Ammoniak ontstaat niet alleen in de weefsels, bijvoorbeeld in de spier, maar ook in aanzienlijke hoeveelheden in het lumen van de darm door afbraak van eiwit en aminozuren door bacteriele enzymen. De lever zet dit ammoniak vervolgens om in ureum waarmee het voor het lichaam onschadelijk is geworden. Tenslotte is de lever verantwoordelijk voor de afbraak van een aantal stoffen die bij de besturing van de eiwitstofwisseling betrokken zijn, zoals de hormonen insuline en glucagon.

De eiwitstofwisseling bij leverziekten

Gezien de grote betrokkenheid van de lever bij de eiwitstofwisseling is het niet verwonderlijk dat er bij ziekten van de lever ernstige stoornissen kunnen ontstaan in de eiwitstofwisseling. Men kan deze stoornissen in grote trekken onderverdelen in drie categorieën. In de eerste plaatst ziet men in het bloed een tekort aan vele voor een goede functie van het lichaam noodzakelijke eiwitten zoals albumine. Dit suggereert een verminderde synthese van deze stoffen in de zieke lever. In de tweede plaats ziet men dat de lever tekortschiet bij de bewaking van de constantheid van het interne milieu. Zo kunnen er afwijkingen ontstaan in de colloïd osmotische druk van het bloed, in de stolbaarheid van het bloed maar ook in het aminozuurpatroon (85). In de derde plaats vindt men een verstoring in de ontgiftende functie van de lever. De verwerking van bijvoorbeeld ammoniak en aromatische aminozuren schiet tekort en deze stoffen kunnen in te hoge concentraties in de circulatie aanwezig blijven. Ook worden bepaalde hormonen zoals bv. insuline onvoldoende afgebroken (61).

Portosystemische encephalopathie

Onder encephalopathie bij leverziekten verstaat men een ingewikkeld klinisch beeld met verschijnselen van neurologische en psychologische aard. Het kan zich voordoen wanneer door welk ziekteproces dan ook de lever zo ernstig is aangetast dat de functie ervan tekortschiet. Men onderscheidt twee vormen van encephalopathie. Onder acute encephalopathie verstaat men een ernstig progressief cerebraal ziektebeeld, veelal gecompliceerd door hersenoedeem, vaak leidend tot een diep coma en tot de dood. Dit ziektebeeld is evenwel in principe reversibel wanneer althans de leverziekte geneest. Het kan optreden

als complicatie van snel progressief verlopende leverziekten (fulminant hepatic failure). Een tweede vorm van encephalopathie is de chronische vorm. Men ziet dan perioden van gestoord cerebraal functioneren afgewisseld door normale of normalere intervallen bij een patient met een chronische stabiele of slechts langzaam progressieve leverziekte. Het is veelal een reversibel proces dat vaak in gang gezet wordt door uitwendige omstandigheden. De belangrijkste hiervan zijn overbelasting van de stofwisseling met stikstofhoudende producten, zoals een overmaat eiwit in het dieet of een grote bloeding in het maagdarmkanaal. Ook stoornissen in de water- en electrolythuishouding kunnen deze encephalopathie luxeren, kaliumtekort, alkalose en aftappen van ascites. Acute infecties leiden eveneens vaak tot een verergering van encephalopathie. Voor het ontstaan van deze vorm van encephalopathie is behalve een tekort aan levercellen ook shunting van poortader bloed, waardoor het in onvoldoende mate in contact komt met levercellen, van belang. In de literatuur staat deze vorm van encephalopathie dan ook veelal bekend als portosystemische encephalopathie (117). Andere namen, zoals hepatische encephalopathie en precoma hepaticum, zijn min of meer synoniem. Wanneer in dit proefschrift gesproken wordt van encephalopathie dan wordt daarmee de chronische vorm bedoeld.

Eiwitvoeding bij levercirrhose

In 1941 publiceerde Patek e.a. een artikel over de behandeling van levercirrhose met een voedzaam dieet, aangevuld met vitamine B-complex (99). Dit artikel was een vervolg op een voorlopig rapport uit 1937 waarin beschreven was dat 13 patienten met een alcoholische cirrhose meer opknapten dan men zou verwachten op grond van de ervaring, wanneer men ze behandelde met een voedzaam dieet en vitamine supplementen (98). De gedachte die aan het onderzoek ten grondslag lag, was, dat deficienties in de voeding mogelijk zouden kunnen leiden tot cirrhose. Een groep van 54 patienten met een gedecompenseerde levercirrhose, met ascites en icterus, werd door hem behandeld met een eiwit- en calorierijk dieet, 139 gram eiwit en 3591 kilocalorieën per dag. Deze groep werd vergeleken met een "historische" controle groep van 386 patienten die tussen 1920 en 1940 in andere ziekenhuizen behandeld waren vanwege dezelfde problemen. Er bleek een hoger overlevingspercentage te bestaan in de met een eiwitrijk dieet behandelde groep, gemeten na 0,5, 1 en 2 jaar na het ogenblik dat de patienten ascites kregen. Behalve dit hogere overlevingspercentage verbeterde ook het

welbevinden. Bovendien leek de ziekte niet verder voort te schrijden. Bij een aanzienlijk aantal patiënten verdween de ascites, het oedeem en de geelzucht. Ook laboratoriumtesten, zoals serum albumine, verbeterden. Geconcludeerd werd dat cirrhose niet per sé een onafwendbaar progressief beloop behoeft te hebben. Bovendien werd geconcludeerd dat voedingstekorten en leverziekten - vaak samengingen. Niet duidelijk werd evenwel of voedingstekorten aanleiding gaven tot cirrhose van de lever of, omgekeerd, dat bij bestaande cirrhose voedingstekorten niet overwonnen werden.

In de jaren die volgden verschenen er meer artikelen die aantoonde dat patiënten met levercirrhose verbeterden wanneer men hen een eiwitrijk dieet gaf. Zo toonde Lewis in 1947 aan dat een partieel hydrolysaat van levereiwit, oraal toegediend, dat effectief was gebleken om gezonde en ondervoede personen in stikstofevenwicht te brengen, een gunstig effect had bij patiënten met levercirrhose (70). Negen patiënten met een milde cirrhose knapten aanzienlijk op onder een eiwitrijk ziekenhuisdieet, aangevuld met dit eiwithydrolysaat, waarbij de uiteindelijke eiwitdosering per 24 uur tussen de 120 en 200 gram eiwit lag. Bij 5 patiënten met een matig ernstige cirrhose toonden 4 een aanzienlijke verbetering. In de groep met ernstige levercirrhose waren de resultaten daarentegen slecht. Van de 5 patiënten overleden er 3, waarvan 2 in coma. De relatie tussen eiwitvoeding en het ontstaan van coma werd niet gelegd.

In 1948 beschrijft Murphy de ziektegeschiedenis van 40 patiënten die in hepatisch coma waren overleden (89). Als oorzaak voor het ontstaan van coma werden opgegeven infectie, bloeding en gebruik van sedativa. Men zocht naar toxische producten uit de eiwitstofwisseling waarvan in het verleden beschreven was dat zij mogelijk tot coma zouden leiden. Maar noch in alpha-aminostikstof, noch in bloedphenol, hoewel beiden verhoogd, werden verschillen gevonden tussen patiënten met leverziekten die wel of die niet in coma waren. Ook Patek in een artikel in 1948, waarin hij herhaalt dat een voedzaam eiwitrijk dieet de prognose verbetert, beschrijft, dat er in zijn groep van patiënten met levercirrhose geen tekenen waren van intolerantie voor dierlijk eiwit (100).

Eckhardt beschrijft in 1949 dat het ook mogelijk is patiënten met alcoholische levercirrhose in positieve stikstofbalans te brengen met intraveneus toegediende aminozuuroplossingen (23). Hij neemt overigens waar dat de patiënten ook verbeterden wanneer ze weliswaar voldoende calorieën, maar in het geheel geen eiwit kregen, en dus in negatieve stikstofbalans

waren. In 1950 onderzoekt hij dit verder door 3 patienten eerst gedurende gemiddeld 10 dagen een eiwitloos, maar calorierijk dieet te geven, en daarna een eiwitrijk dieet (24). Tijdens de eerste periode, ondanks een negatieve stikstofbalans, knapten de patienten klinisch duidelijk op. De vervetting van de lever nam evenwel niet af. Dit gebeurde pas in een tweede periode tijdens een eiwitrijk dieet.

In een tweetal overzichten over therapie van leverziekten uit 1949 (15) en 1950 (20) blijft de nadruk vallen op het geven van een eiwitrijk dieet aan patienten met levercirrhose. Minstens 1 gram eiwit per kilo per dag wordt geadviseerd.

In 1952 komt er echter plotseling een verandering in de situatie. Gabuzda beschrijft dan neurologische afwijkingen bij patienten die ter behandeling van ascites en oedeem, ammoniakhoudende kationenwisselaars kregen toegediend (40). Bij 6 van de 8 patienten ontstaan 8 perioden met verwardheid, apathie, vertraagde spraak, desoriëntatie en onaangepast gedrag, alsmede een grove tremor van de handen. Bij alle patienten bleken deze afwijkingen te verdwijnen wanneer de behandeling met de ionenwisselaar werd gestopt om vervolgens weer terug te komen bij hervatten van de therapie. De overeenkomst tussen de tremor en de neurologische afwijkingen die gezien worden bij deze behandeling, en de neurologische afwijkingen die men ziet bij een dreigend levercoma, suggereren, dat er een gezamenlijke biochemische basis voor bestaat. Philips beschrijft dan dat dezelfde symptomen die met ammoniak kalium kationenwisselaars worden gezien ook kunnen optreden bij toedienen van ureum of het geven van veel eiwit in het dieet (101). Niet iedere patient evenwel vertoont deze verschijnselen; sommigen verdroegen de extra stikstoftoediening zonder enig probleem. Biochemisch onderzoek leerde dat de ammoniakconcentratie van het bloed bleek te correleren met de mate van cerebrale stoornissen. De correlatie was evenwel niet sterk genoeg om de hypothese dat er een oorzakelijk verband zou bestaan tussen het ammoniak en de cerebrale stoornissen te steunen. Wel trok men destijds de conclusie dat toedienen van stikstofhoudende producten bij patienten met levercirrhose encephalopathie kan veroorzaken. Schwartz bevestigde in 1954 dat bij ernstige leverziekten encephalopathie optrad wanneer de hoeveelheid eiwit in het dieet verhoogd werd van 50- naar 75 gram per dag (114). Beperking van de hoeveelheid eiwit resulteerde telkens in een remissie. De conclusie was dat de individuele stikstofbehoefte voor iedere patient bepaald moet worden en

dat een hoge eiwitintake vermeden moet worden bij patienten met een dreigend levercoma.

De bevinding dat bij levercirrhose een overmaat eiwit in de voeding tot encephalopathie kan leiden, werd snel algemeen aanvaard. Men realiseerde zich dat dit verband door verschillende auteurs al eerder beschreven was. Hahn bijvoorbeeld had in 1893 reeds een klassieke beschrijving gegeven van de cerebrale stoornissen die bij honden met een portocavale shunt ontstonden wanneer zij een vleesrijk dieet kregen (54). Sinds 1952 is het gebruikelijk geworden patienten met levercirrhose en encephalopathie met een eiwitarm dieet te behandelen. Maar hoe ver kan men het dieet beperken zonder de patient schade te doen en hem te ondervoeden ? Daarom onderzocht Gabuzda in 1954 de eiwitstofwisseling bij patienten met levercirrhose (39). Hij stelde vast dat de eiwitopname in de darm bij patienten niet van die van normalen afweek. Het stikstofverlies met de faeces was niet groter dan dat van normalen. Ook werd door hem vastgesteld dat onder een eiwitloos dieet het stikstofverlies in de urine niet van dat van normalen afweek wanneer de patient minstens 1600 calorieën in de vorm van glucose kreeg toegediend. Stikstofbalansonderzoek bij 32 patienten leerde dat zij allen in een positieve balans waren wanneer zij minstens 75 gram eiwit per dag kregen. De meesten waren zelfs met 56 gram eiwit per dag in stikstofevenwicht. Hij concludeerde dat de eiwitbehoefte om in evenwicht te blijven vergeleken met gezonde controles, mogelijk wat verhoogd was maar dat een grote hoeveelheid eiwit niet nodig was om de patienten in positieve stikstofbalans te houden. Wellicht is bij leverziekten de utilisatie van het toegediende eiwit iets minder efficiënt. Hij adviseerde patienten te behandelen met een normale doch adequate hoeveelheid eiwit in het dieet in plaats van met een hoge eiwitintake.

Toch kan men thans in de literatuur lezen dat de stikstofbehoefte van patienten met levercirrhose niet verschilt van die van gezonden (81,116).

In het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt was het tot voor kort gebruikelijk aan patienten die een of meer malen encephalopathie hadden doorgemaakt daarna voor de lange termijn een 40 gram eiwitdieet voor te schrijven. Dit is in overeenstemming met de adviezen in de leerboeken. In Cecil's "Textbook of Medicine" wordt geadviseerd patienten met chronische encephalopathie voor de lange termijn te behandelen met 40 gram eiwit per dag aangevuld met Neomycine of Lactulose (63). In Harrison's "Principles of Internal Medicine" wordt dat zelfde advies gegeven (69). De bevindingen van Gabuzda suggereren evenwel dat

deze patientengroep op een dieet met 40 gram eiwit wel eens in een negatieve stikstofbalans zou kunnen zijn (39). De beschreven adviezen houden hier geen rekening mee; ze zouden weleens onjuist kunnen zijn. Sherlock's "Diseases of the Liver and Biliary System" adviseert aan een patient met een exacerbatie van chronische encephalopathie aanvankelijk een volledig eiwitloos dieet te geven met 1600 calorieën als glucose (115). Daarna kan weer met eiwitvoeding worden gestart (20 gram eiwit om de dag tot een onderhoudsdosering van 40 à 60 gram per dag, verdeeld over 4 maaltijden). Gesteld wordt dat deze beperking, ook maandenlang volgehouden, geen aanleiding geeft tot klinische eiwitondervoeding. De argumentatie hiervoor is een artikel uit 1956 (116) waarin beschreven wordt dat 13 patienten gedurende 2 tot 24 maanden een eiwitarm dieet hebben gekregen zonder in lichaamsgewicht achteruit te zijn gegaan; stikstofbalansonderzoek bij 5 van deze patienten toonde aan dat zij in evenwicht waren op 0,58 tot 1,05 gram eiwit per kilo per dag. Dit advies is meer in overeenstemming met de gegevens van Gabuzda (39,41); toch klinkt ook hier zijn stelling niet door dat de eiwitbehoefte mogelijk verhoogd is bij patienten met levercirrhose.

Het ontstaan van encephalopathie

Het mechanisme van het ontstaan van portosystemische encephalopathie is onbekend. De verschillende hypothesen die men daarvoor in de loop van de tijd heeft opgesteld kunnen in drie groepen worden onderverdeeld (140).

In de eerste plaats heeft men gedacht dat er van stapeling van een of meer toxinen in de hersenen sprake moet zijn (140). Hiermee denkt men sinds lang in de eerste plaats aan ammoniak. Ook heeft men wel overwogen dat er mogelijk sprake is van synergisme tussen ammoniak en mercaptanen of ammoniak en korteketen vetzuren die samen voor het ontstaan van coma verantwoordelijk zouden zijn (141). Er zijn in de loop van de jaren vele argumenten aangevoerd die het aannemelijk maken dat ammoniak bij het coma betrokken is. Zo lijkt het klinisch beeld van spontaan optredende portosystemische encephalopathie sterk op dat wat men kan zien wanneer men de patient met ammoniak belast door hem te veel eiwit te geven of ammoniakhoudende geneesmiddelen toe te dienen (101). Maatregelen die geacht worden het ammoniak te verlagen, zoals reinigen van de darmen, eiwitbeperking of behandeling met Lactulose hebben een gunstige invloed op het coma (18). Melkeiwit of plantaardig eiwit wordt door patienten met cirrhose beter verdragen dan dierlijk eiwit omdat het minder aanleiding geeft tot ammoniakproductie (6,28,52). De beste correlatie tussen

de ernst van portosystemische encephalopathie en biochemische afwijkingen is die met glutamine in de liquor cerebro spinalis; dit is een afspiegeling van de hoeveelheid ammoniak in de hersenen (60).

Het grootste bezwaar tegen ammoniak als pathogenetische factor is evenwel dat de bloedconcentratie van ammoniak slecht correleert met de aanwezigheid of de ernst van portosystemische encephalopathie (101): soms vindt men een verhoogd plasma ammoniak bij een normaal reagerende patient, dan weer is de hersenfunctie sterk gestoord, terwijl het plasma ammoniak nauwelijks verhoogd is.

Van mercaptanen is veel minder bekend dan van ammoniak. Technische problemen met het meten van deze stoffen staat bestudering ervan in de weg. Men neemt over het algemeen aan dat de geur van de uitademingslucht die men bij leverpatienten kan opmerken, veroorzaakt wordt door de aanwezigheid van mercaptanen.

Het idee dat er een synergisme zou kunnen bestaan tussen ammoniak, mercaptanen en vetzuren is voornamelijk uit dierexperimenteel werk afkomstig (141). Het mechanisme van de eventuele werking van ammoniak op de hersenen is niet geheel duidelijk. Overwogen is dat ammoniak door zich met alpha ketoglutaarzuur te binden tot glutaminezuur, zoveel alpha-ketoglutaarzuur aan de Krebscyclus zou kunnen onttrekken dat daardoor de functie van deze cyclus gestoord zou raken en de energievoorziening van de hersenen in het gedrang zou komen.

Een tweede theorie over het ontstaan van encephalopathie zegt dat er stoornissen zouden bestaan in de energiehuishouding in de hersenen leidend tot een verminderde zuurstofconsumptie en een lager glucoseverbruik (140). Aangevoerd is dat dit bij patienten die langer in coma zijn inderdaad het geval is; op het ogenblik dat de patient encephalopathisch wordt en in coma gaat, is evenwel het energieverbruik in de hersenen nog normaal (71). Het verminderde zuurstofverbruik zal dus veeleer een secundair fenomeen zijn.

Een derde theorie is die waarbij men ervan uitgaat dat encephalopathie of coma bij patienten met leverziekten verklaard wordt door verstoring van neurotransmitters in de hersenen (34). Dit zou ertoe leiden dat de overdracht van prikkels van de ene op de volgende zenuwcel verstoord raakt. Het onderzoek dat in dit proefschrift beschreven wordt, is mede geïnspireerd door deze laatste theorie.

In 1971 beschreven Fischer e.a. dat enkele van de neurologische en cardiovasculaire complicaties van levercirrhose veroorzaakt zouden kunnen

worden door ophoping van "valse adrenerge neurotransmitters" (34). Hieronder verstaat men op de bêtaplaats gehydroxyleerde phenylethanolamines; octopamine is een voorbeeld van zo'n stof. Deze zogenaamde valse neurotransmitters zouden de normaal aanwezige adrenerge neurotransmitters, noradrenaline en dopamine, van hun plaats verdringen in het perifere en het centrale zenuwstelsel. Men stelde zich voor dat voorlopers van neurotransmitters, zoals phenylalanine, tyrosine en hun amines, in het darmlumen door bacteriele decarboxylasen uit eiwit gevormd zouden worden. Een gezonde lever verwijdt deze stoffen uit het portale bloed. Is de lever echter ziek dan kunnen ze door shunting in de grote circulatie komen en de hersenen bereiken. Daar worden ze gehydroxyleerd en verdringen de normale neurotransmitters.

Fischer nam aan dat zowel de verlaagde arteriele bloeddruk alsook het hepatorenale syndroom en de flapping tremor uit verstoringen van de neurotransmitters verklaard zouden kunnen worden (34). De bewustzijnsstoornissen bij encephalopathie weet hij aan verstoring van "centrale neuronale systemen". Deze theorie was niet strijdig met het bekende effect dat vermindering van de eiwitbelasting in de darm tot verbetering van encephalopathie leidt.

In 1975 bouwden Munro e.a. voort op het concept van de valse neurotransmitters (88). Zij richtten de aandacht echter voornamelijk op het tryptofaan en beschreven dat er bij leverinsufficiëntie vaak een sterke verstoring is van het plasma aminozuurpatroon (110). Er is een teveel aan tyrosine, phenylalanine, methionine en tryptofaan, terwijl de concentratie van de vertakte-keten aminozuren juist verlaagd is. Voor neutrale aminozuren is er een gezamenlijk carriersysteem dat ze over de bloedhersenbarrière vervoert (31). Er treedt hierbij competitie op; extra opname van één aminozuur gaat ten koste van het transport van een ander. Door de verlaagde concentratie vertakte-keten aminozuren zouden nu meer andere neutrale aminozuren, waaronder tryptofaan, de hersenen bereiken. Uit tryptofaan wordt serotonine gevormd, een neurotransmitter met een remmend effect. Serotonine zou verantwoordelijk zijn voor de slaperigheid en bijdragen tot het coma (88).

In 1976 beschreef Soeters e.a. een volgende hypothese (123): portosystemische encephalopathie kan worden gezien als een complicatie van, of een begeleidend fenomeen van een katabole toestand in het lichaam. Encephalopathie zou worden begeleid en mogelijk zelfs veroorzaakt worden door een verstoord aminozuurpatroon. In dit patroon zijn minder vertakte-keten aminozuren

aanwezig. Deze aminozuren zouden worden afgebroken in spieren en vetweefsel onder invloed van het hyperinsulinisme. De verhoogde concentraties aromatische aminozuren werden gezien als een gevolg van afbraak van lichaamseiwit waarbij meer van deze aminozuren zouden vrijkomen dan op dat moment weer konden worden ingebouwd in nieuw lichaamseiwit of konden worden afgebroken door de zieke lever. Deze verstoorde verhouding tussen de aromatische aminozuren en vertakte-keten aminozuren zou wederom door competitie voor de gezamenlijke aminozuurcarrier over de bloedhersensbarriere (31) leiden tot een toename van aromatische aminozuren in de hersenen, waaruit vervolgens valse adrenerge neurotransmitters gevormd zouden worden. De implicatie van deze theorie was dat herstel van anabolisme en normalisatie van het verstoorde plasma aminozuurpatroon nodig was voor de behandeling van encephalopathie.

Deze theorie werd in 1979 nog een stap verder ontwikkeld door James (61). Hij trachtte een synthese te maken tussen de valse neurotransmitter-aminozuurhypothese en de ammoniakhypothese. Hij stelde dat een verhoogd ammoniakgehalte van het bloed van patienten met levercirrhose bijdraagt, zowel aan het verstoorde aminozuurpatroon alsook aan het versnelde transport van neutrale aminozuren naar de hersenen. De verstoring van het aminozuurpatroon door ammoniak komt dan tot stand omdat ammoniak de glucagonsecretie zou stimuleren (73). Hierdoor ontstaat een versterkte gluconeogenese en secundair daaraan hyperinsulinaemie. De opname van neutrale aminozuren in de hersenen wordt als volgt door ammoniak aangezet: ammoniak in de hersenen leidt tot de vorming van glutamine. Dit glutamine moet vervolgens uit de hersenen verwijderd worden. Het passeert hetzelfde aminozuur carriersysteem dat bij de opname van het neutrale aminozuur in de hersenen betrokken is. Aldus wordt glutamine uitgewisseld tegen neutrale aminozuren. Zo ontstaat via een verhoogd glutamine in de liquor een toename van de aromatische aminozuren aldaar. Hieruit worden dan de valse neurotransmitters gevormd.

Later zijn anderen, voortbouwend op de gedachte dat verstoring van neurotransmittersystemen tot encephalopathie aanleiding zou geven, tot weer een geheel andere hypothese gekomen. Schafer beschrijft in 1982 dat gamma-aminoboterzuur (GABA), de voornaamste remmende neurotransmitter in de hersenen, bij het ontstaan van encephalopathie betrokken zou kunnen zijn (113). Dit gamma-aminoboterzuur wordt in het darmlumen onder invloed van bacterien gevormd. Men stelt dat uit de darm afkomstig GABA bij

leverinsufficiëntie in de grote circulatie kan komen en de bloedhersenbarrière kan passeren. In de hersenen zal het zijn eigen receptoren induceren. Daardoor draagt GABA bij tot de remming van het zenuwstelsel, met andere woorden encephalopathie. De door GABA in de hersenen geïnduceerde bindingsplaatsen verklaren bovendien de toegenomen gevoeligheid van patienten met leverinsufficiëntie voor barbituraten en benzodiazepines.

In 1976 heeft Fischer gesuggereerd dat intraveneus toedienen van een aminozuurmengsel verrijkt met vertakte-keten aminozuren nuttig is ter bestrijding van encephalopathie omdat daarmee het verstoorde plasma aminozuurpatroon gecorrigeerd zou kunnen worden (33). Later heeft men ook voorgesteld chronische encephalopathie te behandelen met een oraal toegediend preparaat, waaraan extra vertakte-keten aminozuren waren toegevoegd (38). In de loop der jaren zijn er vele incidentele waarnemingen beschreven waaruit zou blijken dat portosystemische encephalopathie inderdaad zou verbeteren door toediening van dergelijke intraveneuze aminozuuroplossingen (33,37). Aangezien chronische encephalopathie echter over het algemeen snel verbetert wanneer men alle factoren die een exacerbatie bevorderen elimineert, kan aan dergelijke anecdotische waarnemingen, hoe interessant ook, geen bewijskracht worden toegekend. Alleen gecontroleerd onderzoek kan uitmaken of correctie van het verstoorde aminozuurpatroon inderdaad tot verbetering van encephalopathie leidt. Inmiddels is door Rossi Fanelli in een gecontroleerd onderzoek aangetoond dat vertakte-keten aminozuren even effectief zijn bij de behandeling van encephalopathie als lactulose (111). Aangezien van lactulose wordt aangenomen dat dit een effectief preparaat is (18), zal hierin een indirect argument gezien kunnen worden dat een eiwitoplossing met extra vertakte-keten aminozuren inderdaad een therapeutisch effect heeft. Ook werd gevonden dat een oplossing met vertakte keten aminozuren effectiever is dan neomycine bij de bestrijding van portosystemische encephalopathie (13). In een ander gecontroleerd onderzoek waarbij het intraveneus geven van vertakte-keten aminozuren werd vergeleken met het geven van alleen glucose kon geen gunstig effect van deze aminozuren op het coma worden vastgesteld (127).

In een gecontroleerd dubbelblind onderzoek naar het effect van oraal toegediende vertakte-keten aminozuren kon geen effect van deze aminozuren in vergelijking met placebo worden vastgesteld (27). Ook anderen vonden in een vergelijkend onderzoek tussen eiwit aangevuld met vertakte-keten aminozuren en caseïne geen klinisch effect op de encephalopathie (80).

Het nut van de behandeling van encephalopathie met extra vertakte-keten aminozuren blijft dus onduidelijk, onbewezen en omstreden, temeer daar in de loop der jaren inmiddels door velen gevonden is dat een verstoord aminozuurpatroon gevonden wordt bij alle patienten met een chronisch ernstige leverziekte en dat dit geheel en al losstaat van het al dan niet aanwezig zijn van encephalopathie (79,85).

De bestudering van de stikstofhuishouding

De klassieke methode om de stikstofwisseling te bestuderen is het verrichten van stikstofbalansonderzoek. Bij dit onderzoek beschouwt men het lichaam als één compartiment. Men meet hoeveel stikstof er in het lichaam wordt opgenomen met het voedsel en men meet hoeveel stikstof het lichaam verliest met de urine, via de faeces en met huidschilfers en haren. Wanneer het verlies groter is dan de opname, spreekt men van een negatieve stikstofbalans. Overtreft de opname het verlies dan is de balans positief. De stikstofbalans geeft dus in principe geen inzicht in het al of niet bestaan van eiwitondervoeding. De balans geeft uitsluitend aan of onder de condities van het onderzoek het individu in staat is in stikstofevenwicht te blijven. Er zijn enkele problemen bij de interpretatie van stikstofbalansonderzoek. In een overzichtsartikel uit 1976 heeft Hegsted een aantal stikstofbalansonderzoeken uit de literatuur samengenomen en vergeleken (57). Het bleek dat ondanks grote verschillen in leeftijd, sexe, lichaamsgewicht en fysiologische toestand (jonge volwassenen, uitgegroeid, nog groeiend, of zelfs zwanger) van de bestudeerde patienten, de gegevens van deze verschillende onderzoekingen toch samen konden worden gebracht in één figuur. Hierin bleek het mogelijk door de verschillende meetpunten een regressielijn te trekken. Deze lijn suggereerde dat bij een opname van meer dan 5 gram stikstof per dag de stikstofbalans positief was. De regressielijn bleek recht te lopen, ook bij hogere stikstofopnames. De helling van de lijn wijst erop dat ongeveer 20% van de opgenomen stikstof gereteneerd wordt. Dit zou bij een eiwitopname van 87 gram per dag een toename van 25 kg. lichaamsgewicht in een jaar tijd inhouden. Dit is klaarblijkelijk een verkeerde, te hoog uitvallende meting. Als verklaring voor deze te hoog uitvallende schijnbare stikstofretentie, die ook door anderen werd gevonden, is wel aangevoerd dat de stikstofintake veelal overschat wordt omdat van het aangeboden voedsel altijd wel iets op het bord achterblijft, terwijl omgekeerd het verlies

gemakkelijk onderschat kan worden door onvolledige verzameling van de excreta (128).

Een andere verklaring voor deze te hoge schijnbare stikstofretentie zou kunnen zijn dat het stikstofverlies via de huid onderschat wordt; dit komt evenwel niet naar voren als men het verlies werkelijk tracht te meten, waarbij men op hooguit 0,5 gram stikstof per dag uitkomt (11).

Forbes heeft verondersteld dat deze te sterk positieve stikstofbalans een gevolg zou zijn van te korte observatieperioden (36). Hij stelde dat direct na een acute verhoging van de hoeveelheid stikstof in het dieet bij gezonden een aanzienlijke stikstofretentie optreedt; in de loop van enkele weken past de stikstofuitscheiding zich aan (d.w.z. neemt toe). De stikstofbalans daalt daarbij van sterk positief naar nog maar net positief. Oddoye vond echter bij gezonden ook bij langdurige balansen op een hoge eiwitdosering, een positieve stikstofbalans die bleef op het niveau van 1,6 g. stikstof per dag (93). Inderdaad vond hij in de eerste dagen na het ophogen van de stikstofdosering van 12- naar 36 gram grote stikstofretenties, 7,9 g. stikstof per dag.

Dat de schijnbaar te hoge stikstofretentie veroorzaakt wordt door laboratoriumfouten lijkt onwaarschijnlijk. Immers dit zouden randomfouten moeten zijn die elkaar in grote series opheffen. Wel is aangetoond dat bij de klassieke stikstofmeting volgens Kjeldahl nitraat niet meegemeten wordt waardoor waarschijnlijk een geringe onderschatting van het verlies plaatsvindt (68).

Ook de toestand waarin de patient verkeert heeft invloed op de resultaten van het stikstofbalansonderzoek. Zo vindt men bij een zelfde stikstofopname bij ondervoede patienten een grotere stikstofretentie dan bij patienten die goed gevoed zijn.

De hoeveelheid energie in het dieet bepaalt bovendien hoe sterk positief of negatief een balans uitvalt (45,46).

Al deze restricties maken het interpreteren van stikstofbalansonderzoek moeilijk. Het ware te wensen dat er onafhankelijke methoden bestonden om dezelfde gegevens te verkrijgen.

Toch blijft, ondanks alle bezwaren, de stikstofbalans de standaard waaraan ander onderzoek moet worden afgemeten (5).

De uitscheiding van 3-methylhistidine

Een van de methoden die men heeft ontwikkeld om meer inzicht in de stikstofstofwisseling te krijgen is de uitscheiding van 3-methylhistidine in

de urine (56,139). 3-Methylhistidine ontstaat uit histidine dat gemethyleerd wordt nadat het is ingebouwd in spiereiwit. Wanneer men een metaboliet wil gebruiken als maat voor de afbraaksnelheid van het weefsel waar deze stof uit afkomstig is dan moet aan een aantal voorwaarden zijn voldaan (139). Voor 3-methylhistidine als maat voor de afbraaksnelheid van spiereiwit zou dat betekenen dat het in dat eiwit aanwezig moet zijn in bekende en constante hoeveelheden. Het mag in andere dan contractiele spiereiwitten niet in belangrijke mate gevormd worden. Net als andere aminozuren moet het vrijkomen wanneer het spiereiwit wordt afgebroken. Vervolgens mag het niet gereutiliseerd worden bij eiwitsynthese. Het mag niet verder gemetaboliseerd worden in het lichaam en niet worden gestapeld. Er dient een zeer lage nierdrempel te zijn zodat het quantitatief in de urine wordt uitgescheiden. Men heeft beschreven dat voor 3-methylhistidine aan deze voorwaarden is voldaan (139). Variaties in de hoeveelheid uitgescheiden 3-methylhistidine in de urine zouden dan een maat zijn voor de snelheid van afbraak van contractiele spiereiwitten.

Een belangrijke aanname is dat 3-methylhistidine voornamelijk afkomstig is uit spiereiwit en niet in aanzienlijke mate wordt gevormd door andere weefsels. Op dit punt evenwel zijn later twijfels gerezen. Bij onderzoek van verschillende weefsels en organen van de rat werd aangetoond dat 3-methylhistidine voornamelijk in de spier voorkomt. De vraag was echter hoe hoog de productiesnelheid in de verschillende weefsels is, met andere woorden, of de verschillende weefsels aan de totale productie van 3-methylhistidine bijdragen naar rato van hun weefselconcentraties. Zo vond Nagasawa dat de huid en de darm van de rat verantwoordelijk zijn voor 24% van de productie van de in de urine voorkomende 3-methylhistidine (92). Milward e.a. hebben berekend dat de skeletspier, de huid en de darm respectievelijk 25, 7, en 10% van de 3-methylhistidine excretie van de rat leveren (83). De herkomst van meer dan de helft van de 3-methylhistidine in de urine uitgescheiden, kon door hen niet worden achterhaald. Deze berekeningen zijn echter weer aangevochten met als argument dat de door Milward in zijn berekeningen gebruikte turnoversnelheid van het eiwit actine veel te laag was (87). Het resultaat van deze discussies is een sterke discrepantie in de waardering voor 3-methylhistidine als methode voor de meting van de afbraaksnelheid van spiereiwitten. Sommigen menen nu dat de methode alleen bruikbaar is voor het meten van de arterioveneuze verschillen over de spier (107). Anderen zien hierin toch een bruikbare maat, mits met voorzichtigheid

toegepast (4). Weer anderen blijven enthousiast en voorspellen de 3-methylhistidinemethode een goede toekomst (87). De uitscheiding van 3-methylhistidine bij patienten met levercirrhose is onderzocht door Marchesini (76,143). Hij vond dat bij patienten met levercirrhose de uitscheiding verhoogd was in vergelijking tot gezonde controles. De mate van verhoging bleek te correleren met de verlaging van de insuline-glucagon ratio. Overdag, wanneer de glucagonsecretie onderdrukt was en de insuline-glucagon ratio hoger was dan 's nachts, werd minder 3-methylhistidine in de urine uitgescheiden dan gedurende de nachtelijke uren (76).

Eiwitturnovermetingen

Een andere methode die men heeft ontwikkeld om meer informatie over de stikstofstofwisseling te krijgen dan uit de balansen is de meting van de eiwitturnover - de snelheid van eiwitsynthese en eiwitafbraak - met behulp van met isotopen gelabelde aminozuren. De eersten die een methode ontwikkelden om zo de eiwitturnover te meten waren Sprinson en Rittenberg in 1949 (124). Zij gingen uit van het zelfde model dat ook in dit proefschrift is gebruikt, een verdeling van de stikstofhoudende producten in het lichaam over 2 compartimenten, een metabole aminozuurpool en een eiwitpool. De aminozuurpool werd door hen gelabeld met ^{15}N glycine en uit de cumulatieve uitscheiding van isotoop in de urine werd de stikstofturnover berekend.

In de loop van de jaren die volgden zijn er verschillende modificaties op dit idee bestudeerd en heeft men zich verdiept in de juistheid van de aannames die aan de verschillende berekeningen ten grondslag liggen. De verschillende methoden die toen zijn beschreven hebben het inzicht verdiept maar hadden met elkaar gemeen dat ze te ingewikkeld waren om in klinische omstandigheden toegepast te worden.

Waterlow heeft zich beziggehouden met de vraag of de methode van stikstofturnovermeting voor klinisch gebruik geschikt gemaakt zou kunnen worden (131). Bovendien heeft hij de validiteit van de methode en de juistheid van de aannames die daaraan ten grondslag liggen zo goed mogelijk getest. Hij gebruikte het 2 compartimentenmodel voor de verdeling van de stikstofhoudende producten in het lichaam, een metabole aminozuurpool en een lichaamseiwitpool. De totale doorstroming met aminozuren van deze aminozuurpool wordt de flux genoemd. In principe kan men langs twee wegen de stikstofflux door deze aminozuurpool meten. Dit kan geschieden met behulp van

met ^{14}C of ^{13}C gelabelde aminozuren waarbij men de mate van isotoopverrijking van een aminozuur in plasma meet. De snelheid waarmee aminozuren verbrand worden volgt uit het verschijnen van gelabeld kooldioxyde in de uitademingslucht. Uit deze gegevens berekent men de flux, de eiwitsynthese en de eiwitaafbraaksnelheid. Een tweede methode is het geven van een aminozuur gelabeld met het isotoop ^{15}N en het vervolgen van de uitscheiding daarvan in de urine. Beide methoden berusten op verschillende aannames.

In 1977 heeft Golden beide methodes met elkaar vergeleken bij 6 patienten (50). De conclusie was dat de uitkomsten met de verschillende methodes verkregen redelijk met elkaar overeenkwamen. De methodes waarbij de metingen waren gebaseerd op de uitademing van gelabeld kooldioxyde geven theoretisch de beste resultaten; de andere methodes waren bruikbaar voor vergelijkend onderzoek. Het feit dat beide methodes vergelijkbare resultaten opleveren, gaf steun aan de gedachte dat de uitgangspunten waarop zij gebaseerd waren - juist zijn.

In 1978 vergeleek Waterlow verschillende modificaties van de eiwitturnovermeting met behulp van ^{15}N glycine (129). Hij koos voor ^{15}N als isotoop om mee te werken vanwege de afwezigheid van stralingsgevaar. Waterlow vergeleek de resultaten die men verkrijgt bij het gebruik van een enkele dosis isotoop of multiële doses, en bovendien vergeleek hij de resultaten die bereikt worden wanneer men de isotoopverrijking in de urine meet in ureum, dan wel in ammoniak. De conclusie uit dit onderzoek was dat het toedienen van de dosis in multiële fracties een methode was die goede resultaten gaf, maar die mede vanwege de lange duur ervan veel medewerking van de patient vroeg. Daarom was ze slechts geschikt voor researchdoeleinden bij kleine groepen personen. De methode waarbij een eenmalige dosis isotoop werd gegeven bleek eenvoudig genoeg te zijn om toegepast te kunnen worden in klinische omstandigheden. Wanneer de uitscheiding van het isotoop in de urine in de ammoniakfractie werd onderzocht, was de precisie van de methode voldoende; onderzocht men de isotoopverrijking in ureum dan werden slechte resultaten verkregen. De reden waarom deze methode met ureum slecht voldeed was dat een aanzienlijk deel van het gelabelde ureum aan het eind van het onderzoek nog steeds aanwezig was in de lichaams ureumpool. Hierdoor werd de complete uitscheiding vertraagd.

In 1981 beschreef Fern een correctie op deze methode, namelijk door de omvang van de lichaams ureumpool gedurende het eiwitturnover onderzoek te meten evenals de hoeveelheid label die tijdens het onderzoek in deze pool

achterbleef (29). Het bleek dat na uitvoeren van deze correctie de ureummethode wel bruikbaar was. Bovendien kwamen er systematische verschillen tevoorschijn tussen de ureum- en de ammoniakmethode. Vergelijking van de snelheid van eiwitsynthese gedurende de vastende toestand alsook direct na de maaltijd liet zien dat door voedsel voornamelijk de eiwitsynthese gereguleerd wordt wanneer men het onderzoek baseert op de meting van de verrijking in ureum. Meet men daarentegen de verrijking in ammoniak, dan lijkt het erop alsof de regulatie van de eiwitturnover door voedsel voornamelijk gebeurt door modulatie van de snelheid van eiwitafbraak. Op grond hiervan werd geconcludeerd dat het waarschijnlijk beter is voor het bestuderen van veranderingen in de eiwitturnover gebruik te maken van het gemiddelde van de waarnemingen gedaan met ammoniak en met ureum als eindproduct.

Teneinde inzicht te krijgen in de factoren die de uitkomst van stikstofbalansonderzoek bij patienten met levercirrhose bepalen, hebben wij besloten deze methode van eiwitturnover onderzoek te gaan toepassen (29). Inmiddels heeft O'Keefe resultaten beschreven van eiwitturnover onderzoek met behulp van ^{14}C gelabeld tyrosine bij patienten met levercirrhose (64,65). Hij vond een hogere flux en een hogere snelheid van eiwitsynthese en afbraak bij patienten met cirrhose vergeleken met normalen. Bij patienten met een acute leverinsufficiëntie werden nog veel hogere waarden gevonden voor de flux, synthese en afbraak. Zijn conclusie was dat de hoeveelheid aminozuren afkomstig uit afbraak van eigen lichaamseiwit bij beide groepen patienten zo veel groter was dan die uit het dieet afkomstig, dat pogingen de eiwitafbraak te remmen waarschijnlijk veel effectiever zouden zijn om de eiwitoverbelasting bij gedecompenseerde leverziekten te bestrijden dan de conventionele aanpak van beperking van de hoeveelheid eiwit in het dieet.

HOOFDSTUK III

METHODEN

In dit hoofdstuk zullen de verschillende methoden besproken worden die gebruikt zijn bij het balansonderzoek en bij de turnoverbepalingen. Ook de resultaten van de testen ter validering van de gebruikte methoden zijn in dit hoofdstuk opgenomen. De resultaten van het toepassen van deze methoden bij de patienten komen aan de orde in de hoofdstukken IV, V en VI.

Patientenselectie: Balansonderzoek

Bij het selecteren van patienten voor balansonderzoek is gezocht naar patienten met een chronische leverziekte die tot het stadium van cirrhose was ontwikkeld. Een histologische bevestiging van deze diagnose is een eerste voorwaarde geweest. De aetiologie van de cirrhose is geen criterium geweest bij de patientenkeuze; zowel patienten met chronische hepatitis, primair biliaire cirrhose als ook patienten met alcoholische leverbeschadiging zijn onderzocht. Wel is getracht te vermijden dat patienten met alcoholische hepatitis en/of steatose in het onderzoek betrokken zouden worden. Dan zou er immers een groep onderzocht zijn bij wie op korte termijn nog aanzienlijke veranderingen in de klinische toestand te verwachten zouden zijn. Patienten met recent fors alcoholgebruik zijn dan ook alleen maar onderzocht in aansluiting aan een langdurige ziekenhuisopname waarbij de lever voldoende tijd had gekregen om zich te herstellen van steatose en andere acute toxische effecten van alcohol.

Een tweede voorwaarde bij de patientenselectie was dat er bij het begin van het onderzoek geen manifeste encephalopathie mocht bestaan. Het ontbreken van verpleegkundige begeleiding op de balansafdeling tijdens de nachturen maakte het onverantwoord patienten met manifeste encephalopathie daar op te nemen.

Wel is gezocht naar patienten die in het verleden één of meer malen encephalopathie hadden doorgemaakt en die op grond daarvan werden behandeld met een eiwitbeperkt dieet. Ten tijde van het uitvoeren van dit onderzoek hield dat in het A.Z.R.-Dijkzigt in een dieet met 40 gram eiwit per dag.

Deze groep patienten was interessant om te onderzoeken omdat het aannemelijk was dat er bij hen problemen zouden kunnen ontstaan bij een verkeerde dieetkeuze, zowel bij een te hoge als bij een onvoldoende eiwitopname. De kans was dus het grootst dat er juist in deze groep een antwoord gevonden zou worden op de vragen of eiwitondervoeding leidt tot toename van encephalopathie en of extra vertakte-keten aminozuren helpen om dit tegen te gaan. Anderzijds was het voor deze patienten ook van direct belang dat deze vragen beantwoord werden.

Een derde voorwaarde waaraan de patienten moesten voldoen, was dat ze in een stabiele klinische toestand moesten verkeren. Het bestaan van koortsende ziekten of ontstekingsprocessen moest zijn uitgesloten. Ook het bestaan van ascites is een reden geweest een patient niet in dit onderzoek op te nemen; immers dit brengt een intensieve behandeling met de nodige kans op complicaties met zich mee.

De patienten werden tevoren over de opzet en de doelstelling van het onderzoek uitvoerig ingelicht alvorens hen werd gevraagd of zij er aan wilden deelnemen. Duidelijk werd gesteld dat het ging om het beoordelen van de vraag of het dieet dat tot dan toe was geadviseerd wel juist gekozen was. Ook werd uitgelegd dat de effecten van een ander type eiwit (meer vertakte-keten aminozuren) zouden worden onderzocht. Dit type eiwit zou, mocht het resultaat van het onderzoek positief uitvallen, voor de toekomstige behandeling van deze patienten een nuttig alternatief kunnen zijn. Het meest directe voordeel voor de patienten was echter de kans dat het mogelijk zou blijken het dieet verantwoord uit te breiden zodat zij van een deel van de hen opgelegde tamelijk hinderlijke dieetbeperkingen verlost zouden zijn.

Bovenstaande criteria zijn aangelegd bij de keuze van de patienten, zowel voor de eerste groep van acht als voor de tweede groep van vier patienten. In deze tweede groep zaten twee patienten die ook in de eerste groep voorkomen.

Patientenselectie: Eiwitomzetonderzoek

Voor het onderzoek naar de snelheid van eiwitsynthese en afbraak zijn patienten gekozen met een histologisch bevestigde diagnose van cirrhose van

de lever. Het betreft hier een andere groep patienten dan bij het balansonderzoek. Ook hier is niet nader geselecteerd op geleide van de aetiologie. Ook hier vormde de aanwezigheid van ascites een reden van het onderzoek af te zien; het totale lichaamswater - nodig voor de berekeningen - kan onder die omstandigheden niet betrouwbaar geschat worden. Alleen patienten met een normale nierfunctie zijn onderzocht.

De aard en doelstelling van het onderzoek werd aan de patienten uitgelegd. Voor het onderzoek werd de goedkeuring van de ethische commissie van het A.Z.R.-Dijkzigt verkregen.

De beoordeling van de voedingstoestand

Er is getracht een indruk te verkrijgen omtrent de voedingstoestand van de patienten aan het begin van het balansonderzoek (7). Als basale anthropometrische gegevens zijn gebruikt de lichaamslengte en het lichaamsgewicht. Hieruit is de gewicht/lengte index berekend (7). Dit doet men door het werkelijke gewicht van de patient, in kilogrammen, vermenigvuldigd met 100, te delen door het "ideale gewicht". Hieronder verstaat men het bij de lichaamslengte en geslacht passende gewicht, afgelezen uit de tabellen die zijn samengesteld op basis van de gegevens van de Metropolitan Life Insurance Company.

Deze index wordt gebruikt om de voedingstoestand van patienten te beoordelen en zo ondervoeding op te sporen. Een index tussen 90 en 110 wordt als normaal beschouwd. Bevindt de index zich tussen 80 en 90 dan wijst dit op het bestaan van geringe tekorten. Tussen de 60 en 80 spreekt men van matig ernstige tekorten, terwijl een index van minder dan 60 op ernstige tekorten in de voedingstoestand wijst.

De Queteletindex is een empirische grootheid die gevonden wordt door het lichaamsgewicht in kilogrammen te delen door het kwadraat van de lichaamslengte in meters (49). Deze maat wordt eveneens gebruikt om over- en ondergewicht te beoordelen. De grenzen van normaal variëren voor mannen van 19,7 tot 24,9 en voor vrouwen van 18,1 tot 24,2 (44).

De creatinine/lengte index wordt eveneens gebruikt om ondervoeding op het spoor te komen (7). Deze index wordt gebruikt als maat voor de vetvrije lichaamsmassa, de "lean body mass". De aanname hierbij is dat de creatinine-uitscheiding per 24 uur van dag tot dag stabiel is en evenredig is aan de spiermassa. De index wordt berekend door de creatinine-uitscheiding per 24 uur vermenigvuldigd met 100, te delen door de "ideale

creatinine-uitscheiding". Hieronder wordt verstaan de creatinine-uitscheiding bij ideaal lichaamsgewicht. Voor mannen wordt deze uitscheiding geacht te zijn 23 mg./kg. ideaal lichaamsgewicht en voor vrouwen 18 mg./kg. ideaal lichaamsgewicht. Voor het beoordelen van de hier gevonden waarden worden dezelfde maatstaven aangelegd als bij de gewicht/lengte index. Een index tussen 90 en 110 is normaal, een index van 80 tot 90 wijst op geringe tekorten, één tussen 60 en 80 op matig ernstige tekorten terwijl een index onder de 60 op het bestaan van ernstige tekorten wijst.

Als biochemische maat voor het beoordelen van de voedingstoestand zijn gebruikt het plasma albumine, het retinolbindend eiwit en het prealbumine (119). Plasma albumine is een eiwit met een lange halfwaardetijd. Het wordt in verlaagde concentraties gevonden bij acute en chronische ziekten. Ook bij patienten met leverziekten vindt men een verlaagd plasma albumine, deels door een verminderde synthese, deels door een toegenomen hoeveelheid lichaamswater c.q. plasmawater en voorts door verdeling over abnormale compartimenten (ascites).

Retinolbindend eiwit en prealbumine zijn acute fase eiwitten waarvan de concentratie in het plasma afneemt bij eiwit-calorieondervoeding maar ook bij leverziekten. In tegenstelling tot albumine hebben ze een korte halfwaardetijd; deze bedraagt voor prealbumine ongeveer 48 uur en voor retinolbindend eiwit ongeveer 12 uur. Het voordeel van het meten van de concentraties van deze eiwitten is dat veranderingen in de voedingstoestand zich snel hierin afspiegelen (119). Veranderingen in de spiegel van het albumine ziet men pas op de langere termijn.

BALANSONDERZOEK

Dieetanamnese voor opname

Tijdens het balansonderzoek kreeg elke patient een dieet dat steeds een vast aantal calorieën bevatte terwijl de hoeveelheid eiwit per 10 daagse periode op één van de drie gekozen niveaus werd ingesteld. Het aantal calorieën dat iedere patient kreeg, hing uitsluitend af van zijn of haar eigen voorkeur. Daarom werd, voorafgaande aan de opname op de balansafdeling, door steeds dezelfde dietiste van iedere patient een voedingsanamnese opgenomen. Hierbij werd een schatting gemaakt van het gemiddeld per dag gebruikte aantal calorieën gedurende de laatste maanden. Tevens werd de patient gevraagd welke voedingsmiddelen hij bij voorkeur tijdens zijn verblijf op de balansafdeling

wilde gebruiken. Zo werd de keuze van de groenten aan de patient overgelaten. Ook in de verdeling van het eiwit over plantaardige producten, zuivel en vlees werd in principe de voorkeur van de patient gevolgd. Allen kozen voor een dieet met gemengd plantaardig en dierlijk eiwit.

Het berekenen van de energiebehoefte

De energiebehoefte van een individu onder basale condities (basal energy expenditure, B.E.E.) kan berekend worden volgens de Harris Benedict Standaard (55). De behoefte verschilt voor mannen en voor vrouwen.

De formule voor de berekening luidt:

voor de man : $B.E.E. = 66,473 + 13,7516 W + 5,0033 H - 6,7550 A$

voor de vrouw: $B.E.E. = 665,0955 + 9,5634 W + 1,8496 H - 4,6756 A$.

Hierin is W(eight) het lichaamsgewicht in kilogrammen, H(eight) de lichaamslengte in centimeters en A(ge) de leeftijd in jaren.

Het energieverbruik en dus ook de energiebehoefte stijgt naarmate er meer lichamelijke inspanning wordt verricht. Men schat dat voor een individu dat ambulant is maar geen verdere lichamelijke inspanning verricht de behoefte een factor 1,2 boven de basale behoefte ligt (66).

Deze norm is aangehouden bij het berekenen van de behoefte van de patienten tijdens hun verblijf op de balansafdeling.

Het bepalen van het eiwit- en energiegehalte van de dieten

Bij het berekenen van de samenstelling van een dieet berekent men van de verschillende componenten afzonderlijk het gehalte aan eiwit, koolhydraat en vet volgens de Nederlandse voedingsmiddelentabellen (Voorlichtingsbureau van de voeding 1983 's Gravenhage). Men kent dan na optelling het eiwitgehalte van het dieet alsook de totale hoeveelheid koolhydraat en vet die het dieet bevat.

De energie opbrengst voor een organisme is voor iedere voedingsstof verschillend. Ze is afhankelijk van de verteerbaarheid van het product en de verbrandingswaarde van de componenten ervan. Beide kunnen verschillen, bv. tussen plantaardig en dierlijk materiaal. Men werkt daarom met gemiddelde waarden.

In dit onderzoek is van de gebruikelijke aanname uitgegaan dat eiwit 4 kcal. (16,8 kJ.) per gram opbrengt, koolhydraat ook 4 kcal. (16,8 kJ.) per gram en vet 9 kcal. (37,8 kJ) per gram.

De calorie - stikstofverhouding

De calorie - stikstofverhouding berekent men om te beoordelen of een dieet redelijk uitgebalanceerd is. In de ideale situatie komt al het eiwit uit het dieet ter beschikking om in lichaamseiwit te worden ingebouwd. Dit houdt in dat de energiebehoefte dan volledig gedekt moet worden met calorieën uit koolhydraat en vet afkomstig. Gluconeogenese uit eiwit is dan overbodig. De verhouding is berekend voor iedere 5-daagse dieetperiode bij elke patient. Alleen de gemiddelde waarden worden gepresenteerd.

De aminozuursamenstelling van de dagelijkse voeding

Alvorens een methode kon worden ontwikkeld om de aminozuursamenstelling van het voedsel te modificeren, diende eerst de aminozuursamenstelling van het voedsel in het dagelijkse dieet bij benadering bekend te zijn. Daarom werden de analysegegevens van een aantal commercieel verkrijgbare voedingsproducten opgezocht, alsook de berekende aminozuursamenstelling van een tweetal eiwitbeperkte dieten. Hieruit kwam naar voren dat van de aminozuren van het eiwit in de normale voeding gemiddeld ongeveer 20% (gewicht/gewicht) vertakte- keten aminozuren zijn. Dit eiwit wordt vervolgens natuurlijk eiwit genoemd. Het gemodificeerde aminozuurmengsel dat volgens de literatuur (33) voor patienten met leverinsufficiëntie beter geschikt zou zijn, week af van dit patroon en bevatte 35% vertakte-keten aminozuren. Dit eiwit wordt vervolgens met vertakte-keten aminozuren (V.K.A.Z.) aangevuld eiwit genoemd. Uit dezelfde analyses bleek dat in natuurlijk eiwit de drie vertakte keten aminozuren leucine, isoleucine en valine voorkomen in een onderlinge verhouding van 4 : 3 : 3 (gewicht/gewicht), ongeacht of dit dierlijk of gemengd plantaardig en dierlijk eiwit was.

Het verkrijgen van met vertakte-keten aminozuren verrijkt eiwit

Getracht is het voor patienten met leverinsufficiëntie voor parenterale toediening aanbevolen aminozuurmengsel qua samenstelling na te bootsen in een vorm die voor oraal gebruik geschikt was. Dit is gedaan door aan natuurlijk eiwit een aminozuurpoeder toe te voegen bestaande uit een mengsel van leucine, isoleucine en valine in een gewichtsverhouding van 4 : 3 : 3. Dit mengsel werd verdeeld in poeders die elk 6,7 gram aminozuren bevatten, overeenkomend met 5 gram eiwit (ovalbumine). De patienten kregen bij hun dieet één of meer van deze poeders per dag toegediend terwijl tegelijkertijd een overeenkomstige hoeveelheid natuurlijk eiwit weggelaten werd.

Zo ontstonden de volgende dieten:

- 40 gram natuurlijk eiwit
- 35 gram natuurlijk eiwit en 5 gram aminozuren
- 60 gram natuurlijk eiwit
- 50 gram natuurlijk eiwit en 10 gram aminozuren
- 80 gram natuurlijk eiwit
- 65 gram natuurlijk eiwit en 15 gram aminozuren.

Wanneer een 80 gram eiwitdieet gesplitst wordt in 65 gram natuurlijk eiwit en 15 gram vertakte-keten aminozuren als poeder dan bevat dit dieet aan vertakte-keten aminozuren 20% van 65 gram (= 13 gram) en 100% van 15 gram. Het gehalte aan vertakte-keten aminozuren is dan $(13 + 15) : 80 \times 100\% = 35\%$. De combinatie van 50 gram natuurlijk eiwit en 10 gram aminozuren bevat 33% vertakte-keten aminozuren. Met 35 gram natuurlijk eiwit en 5 gram aminozuurpoeder bereikt men een gehalte aan vertakte-keten aminozuren van 30%.

Hiermee was een gemakkelijk hanteerbaar schema gevonden waarmee het nagestreefde doel - 35% vertakte-keten aminozuren - dicht benaderd kon worden.

Verzameling van de excreta

De urine werd tijdens de mictie opgevangen in een gekoelde bokaal; hierin werd ze ook bewaard. Iedere ochtend te 09.00 uur werd deze bokaal geleegd en door een nieuwe vervangen. Uit de verzamelde 24 uren urine werd direct na mengen en meten van het volume een monster genomen dat in de diepvries bij -20 graden Celsius werd bewaard tot latere bewerking.

De faeces werden verzameld in porties van 5 dagen, eveneens in gekoelde dozen. Het eind van iedere verzamelperiode werd vastgesteld met 500 mg. karmijnrood als faecale merkstof. Na afloop van een verzamelperiode werden de faeces gewogen, verdund met een bekende hoeveelheid water en gehomogeniseerd. Hieruit werd een monster genomen dat eveneens bij -20 graden Celsius werd bewaard tot latere analyse.

In de tweede serie balansonderzoekingen is aan de patienten dagelijks 1200 mg. polyaethyleenglycol in capsules verpakt toegediend. Tevens kregen zij aan het eind van iedere verzamelperiode 500 mg. karmijnrood als faecale merkstof. Bij de latere berekeningen kon dan met behulp van de gemeten uitscheiding van de polyaethyleenglycol gecorrigeerd worden voor verzamelfouten.

De opzet van het balansonderzoek

De eerste serie met 8 patienten

In deze serie balansen is de verzamelperiode voor elk der patienten 30 dagen geweest. Deze tijd werd verdeeld in 3 perioden van 10 dagen. Gedurende deze 10 daagse perioden kreeg de patient een dieet aangeboden dat respectievelijk 40, 60 en 80 gram eiwit per dag bevatte. Steeds werd gestart met het meest eiwitarme dieet, 40 gram per dag, en werd de dosering eiwit stapsgewijs opgevoerd naar eerst 60- en later 80 gram per dag. Voor de start van de eerste verzamelperiode is steeds een inlooperperiode van minimaal 2 dagen op een 40 gram eiwitdieet ingelast. Tijdens het onderzoek werd direct van de ene op de andere verzamelperiode overgeschakeld. Gezien de toch al lange duur van het onderzoek werden er geen inloop- of stopdagen ingelast.

Iedere 10 daagse periode was verdeeld in twee 5-daagse perioden gedurende welke de patient óf natuurlijk eiwit óf eiwit verrijkt met vertakte-keten aminozuren kreeg.

Bij de balansen 1 tot en met 4 werd iedere 10 daagse periode begonnen met V.K.A.Z. verrijkt eiwit gedurende 5 dagen. Gedurende de resterende 5 dagen werd natuurlijk eiwit gegeven. Bij de balansen 5 tot en met 8 werd deze volgorde omgekeerd. (zie figuur IV-A t/m IV-D).

Het voedsel werd verstrekt, verdeeld over 3 maaltijden per dag. Deze werden geserveerd om 09.00, 12.00 en 17.00 uur. Tussen de maaltijden door werd alleen koffie en thee verstrekt.

De tweede serie van 4 patienten

Dit onderzoek bestond in opzet uit 4 balansperioden van 7 dagen elk. De eerste 2 dagen van iedere periode waren inloepdagen, daarna volgden 5 verzameldagen.

In de eerste periode werd 40 gram eiwit per dag gegeven. In de tweede en derde periode kreeg de patient 60 gram eiwit per dag. Tenslotte volgde een vierde periode waarin het dieet 80 gram eiwit per dag bevatte.

De twee perioden met 60 gram eiwit per dag verschilden in de manier waarop het voedsel over de dag was verdeeld. In één van beide perioden kreeg de patient drie maaltijden, om 09.00, 12.00 en 17.00 uur. In de andere periode werden 4 maaltijden verstrekt, om 09.00, 12.00, 17.00 en 21.00 uur. Overigens was het dieet in beide perioden identiek. De volgorde waarin de perioden met drie en vier maaltijden per dag zijn gegeven, is niet voor iedere patient dezelfde geweest.

Bij twee patienten is de vierde dieetperiode overgeslagen omdat 80 gram eiwit per dag voor deze patienten op klinische gronden te veel werd geacht wegens het gevaar op het ontstaan van porto-systemische encephalopathie.

De omrekening van eiwit naar stikstof

Bij de samenstelling van een dieet rekent men in grammen eiwit; in het laboratorium meet men stikstof. Om deze gegevens samen te kunnen gebruiken, moet men het stikstofgehalte van het eiwit berekenen. De vermenigvuldigingsfactor die men hiervoor moet gebruiken, verschilt van soort eiwit tot soort eiwit. Voor gemengd dierlijk en plantaardig eiwit wordt traditioneel een gemiddelde factor van 6,25 aangehouden (137). Deze factor is bij alle berekeningen in dit onderzoek gebruikt.

De berekening van de stikstofbalans

Het stikstofgehalte van de dieten is berekend uit het eiwitgehalte dat is bepaald door berekening met behulp van standaardtabellen, uitgaande van afgewogen hoeveelheden voedingsmiddelen van bekende samenstelling. Controle op deze berekeningen door chemische analyse van complete dagporties voeding heeft in de eerste serie van 8 balansen niet plaatsgevonden. In de tweede serie balansen is deze controle wel verricht. Teneinde beide series balansen onderling vergelijkbaar te maken, is bij de uitwerking van de tweede serie toch van het berekende stikstofgehalte uitgegaan.

Voor het stikstofverlies via de huid is voor iedere patient een stelpost genomen van 0,5 gram per dag (11). Er is niet getracht dit verlies te relateren aan het lichaamsoppervlak of het lichaamsgewicht.

Het stikstofverlies in de urine is gevonden als het product van de gemeten stikstofconcentratie in het monster uit de 24 uren urine en het gemeten volume van de 24 uren urine.

Het stikstofverlies met de faeces per 24 uur is berekend als één vijfde deel van het product van het stikstofgehalte van het monster uit de totale 5-daagse faecespool en het gewicht van die pool. Bij de tweede serie balansen kregen de patienten per dag 3 maal 400 mg. polyaethyleenglycol toegediend als inerte faecale merkstof. Hier is de stikstofuitscheiding per 24 uur in de faeces bepaald als die hoeveelheid stikstof die gevonden wordt in een portie die 1200 mg. polyaethyleenglycol bevat.

De stikstofbalans kon nu berekend worden met behulp van de formule

$$B = D - (U + F + H)$$

waarin: B de stikstofbalans voorstelt, D de stikstofinname in het dieet, U het stikstofverlies in de urine, F het stikstofverlies via de faeces, en H het stikstofverlies via de huid.

Alle uitslagen werden uitgedrukt als grammen stikstof per 24 uur.

Zo was het mogelijk voor iedere verzamel dag een dagstikstofbalans te berekenen. De gemiddelde stikstofbalans per dag per patient is voor iedere verzamelperiode berekend als het gemiddelde van de 5 aparte waarnemingen in die periode. De gemiddelde stikstofbalans voor de gehele groep patienten voor elk afzonderlijk niveau van eiwitopname is bepaald door alle individuele dagelijkse balansen op die intake bij elkaar op te tellen en de som te delen door het aantal waarnemingen.

Op dezelfde wijze werd de gemiddelde stikstofbalans per soort eiwit voor elke dosering eiwit eveneens verkregen als het rekenkundig gemiddelde van alle individuele dagbalansen in die serie.

De cumulatieve stikstofbalans per periode werd bepaald door de dagelijkse stikstofbalansen bij elkaar op te tellen; in de tabellen in hoofdstuk IX zijn de uitkomsten hiervan steeds aan het eind van iedere verzamelperiode vermeld.

De minimale eiwitbehoefte

De minimale eiwitbehoefte is berekend uit de gegevens verkregen bij het stikstofbalansonderzoek (104).

In een coördinatenstelsel werd op de x-as de hoeveelheid eiwit in het dieet uitgezet, uitgedrukt in grammen stikstof per dag; op de y-as de daarmee corresponderende gemiddelde stikstofbalans per 5-daagse periode. Zo konden per patient 3 getallenparen uitgezet worden.

Met behulp van een calculator werd een lineaire regressievergelijking voor deze 6 waarnemingen opgesteld. Vervolgens werd het snijpunt van de regressielijn en de x-as bepaald. Dit punt representeert de hoeveelheid eiwit in het dieet waarbij de stikstofbalans juist nul is. Per definitie is dit de minimale eiwitbehoefte.

Bij de bovenbeschreven methode wordt geen rekening gehouden met kwalitatieve verschillen tussen de twee soorten eiwit. Eenzelfde analyse kan men echter ook uitvoeren door telkens drie punten te tekenen, gevonden bij gebruik van of natuurlijk eiwit of eiwit verrijkt met vertakte-keten aminozuren, en vervolgens door deze drie punten een lineaire regressielijn te tekenen. Zo kan per patient men de minimale eiwitbehoefte per soort eiwit bepalen.

Men kan de "veilige" eiwitdosering berekenen door bij de gemiddelde waarde van de 8 individueel bepaalde uitkomsten van de minimale eiwitbehoefte 2 x de standaarddeviatie op te tellen. Deze "veilige eiwitdosering" ("protein allowance"), is de dosering eiwit waarop 95% van de patienten in een positieve stikstofbalans is.

Het berekenen van de "net protein utilisation"

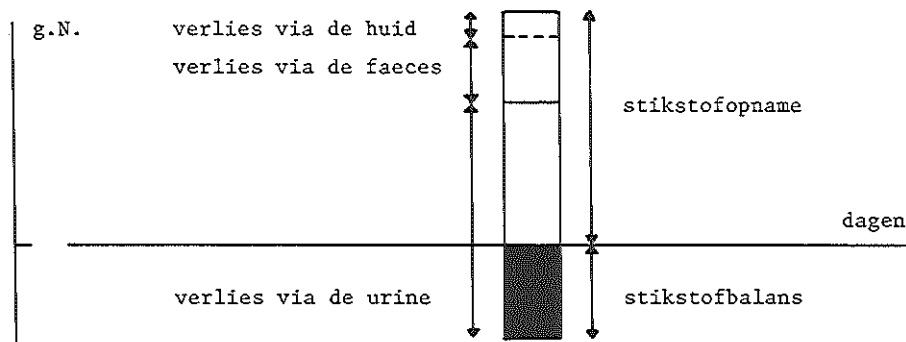
De "net protein utilisation" (N.P.U.) meet het percentage dat in het lichaam geretineerd en dus ingebouwd wordt van de hoeveelheid eiwit die met het voedsel gebruikt wordt (137). Ze wordt berekend om een indruk te krijgen van de biologische waarde van een eiwit; behalve hiervan hangt ze echter ook af van de resorbeerbaarheid van het te onderzoeken eiwit. De berekening gaat als volgt:

$$\text{N.P.U.} = (\text{N opname} - \text{N verlies}) / \text{N opname} \times 100\%$$

waarbij (N opname) de hoeveelheid stikstof in het dieet voorstelt en (N verlies) het totale verlies via urine, faeces en huid. Alle waarden worden uitgedrukt in grammen stikstof per dag. De net protein utilisation moet worden gemeten bij een eiwitdosering waarbij aan behoeften van de individu ongeveer wordt voldaan en waarbij de balans dus rond het evenwichtspunt ligt (137). Vandaar dat de berekeningen bij de patienten bij dit onderzoek zijn verricht bij een stikstofopname van 60 gram per dag.

Presentatie van de gegevens van het balansonderzoek

De meetwaarden en de berekeningen van de verschillende stikstofbalansen zijn gepresenteerd in de tabellen IX-1 t/m IX-12. In de figuren IVA t/m IV-D zijn de zelfde gegevens weergegeven. Deze figuren zijn opgebouwd als het onderstaande voorbeeld.



De stikstofbalans - het verschil tussen het eind van de kolom "verlies via de urine" en de basislijn - is in deze figuren zwart gekleurd.

Tenzij anders aangegeven zijn de gegevens gepresenteerd als gemiddelde en standaard fout van het gemiddelde ($\bar{x} \pm \text{SEM}$). Voor de statistische bewerking van de resultaten is gebruik gemaakt van de gepaarde en tweezijdige symmetrietest volgens Wilcoxon).

Cijferverbindingstesten

Voor de cijferverbindingstesten is gebruik gemaakt van formulieren die in het A.Z.R.-Dijkzigt ontwikkeld waren (53) naar analogie van elders gebruikte modellen (17). Er waren twee typen formulieren, A en B, en van elk type twee verschillende exemplaren. Bij het ene type bevatte het formulier alleen getallen van 1 tot en met 25 die willekeurig over het vlak van het papier waren verdeeld. De opdracht hier was deze getallen in de juiste volgorde met elkaar te verbinden door een getrokken lijn. Het andere type bevatte een combinatie van getallen en cijfers, die afwisselend met elkaar verbonden moesten worden

(1 - A - 2 - B - 3 - C - 4 etc.).

In beide gevallen werd de tijd gemeten die de patient nodig had om de test volledig uit te voeren.

De testen werden eveneens uitgevoerd door een aantal controlepersonen van diverse leeftijden. Het rekenkundig gemiddelde van de bij deze groep gevonden tijden werd voor ieder formulier als norm genomen (53). De tijd die de patient besteedde aan het voltooien van een formulier werd gemeten en uitgedrukt als percentage van de normale score voor dat formulier. Aan het einde van iedere balansperiode, op dezelfde dag dat er ook een E.E.G. gemaakt werd, kreeg de patient 2 testen uit te voeren, van beide typen één. De volgorde waarin deze testen werden aangeboden, werd zoveel mogelijk gevarieerd. De gemiddelde score als percentage van normaal voor deze 2 testen vormde de uitslag van het onderzoek en werd in de tabellen opgenomen. Hierop heeft verdere statistische analyse plaatsgevonden.

Het electro-encephalogram

Ter beoordeling van de cerebrale functie werd een volledig electro-encephalogram vervaardigd op de vierde of vijfde dag van iedere balansperiode (97). Dit E.E.G. werd steeds door een zelfde waarnemer beschreven. Het E.E.G. werd tevens op de band opgenomen voor latere computeranalyse. De gegevens uit

dit onderzoek zijn mede gebruikt bij het opzetten van een spectraalanalyse van het E.E.G. Daardoor was het helaas onmogelijk geworden deze spectraalanalyse te gebruiken om de E.E.G.'s in dit onderzoek met elkaar te vergelijken. Er werd daarom een eenvoudig scoringssysteem ontworpen teneinde de klinische beschrijvingen van de E.E.G.'s met elkaar te kunnen vergelijken. Dit systeem is niet gevalideerd. Een normaal E.E.G. kreeg als score een 1. Werden er lichte diffuse cerebrale stoornissen gezien, dan leverde dat score 2 op. Matige diffuse cerebrale stoornissen werden genoteerd als score 3 en voor ernstige diffuse cerebrale stoornissen werd score 4 gegeven. Waren er behalve diffuse stoornissen ook focale afwijkingen, dan werden deze focale stoornissen met 0,5 gewaardeerd. Wanneer een E.E.G. in lichte mate veranderde ten opzichte van eerdere E.E.G.'s dan werd daarvoor een score van 0,5 opgeteld of afgetrokken. Een E.E.G. met lichte diffuse cerebrale stoornissen, verslechterd ten opzichte van een eerder E.E.G. dat ook, lichte diffuse cerebrale stoornissen had vertoond, werd gewaardeerd met score 2,5. Een E.E.G. met lichte diffuse cerebrale stoornissen, verbeterd t.o.v. een eerder E.E.G. met eveneens lichte diffuse cerebrale stoornissen, kreeg als score 1,5. De aldus verkregen punten werden vervolgens gebruikt voor statistische analyse.

Plasma aminozuurbepalingen

Bepalingen van het patroon van de plasma aminozuren zijn uitgevoerd met behulp van gaschromatografie op capillaire kolommen (1,2). Dit is mogelijk als de polaire aminozuren apolair zijn gemaakt door zowel de zuurgroep als ook de aminogroep af te schermen (derivatiseren).

Het isoleren van de aminozuren uit het plasma

In dit proces werden de aminozuren van de andere bestanddelen van het plasma zo volledig mogelijk gescheiden met behulp van een ionenwisselaar. Nadat aan 0,2 ml. plasma een bekende hoeveelheid norleucine of aminoadipaat als interne standaard was toegevoegd, werd het monster onteiwit met behulp van een natrium wolframaatoplossing. Na mengen en na 10 minuten staan, werd gecentrifugeerd bij 10.000 g.

De bovenstaande vloeistof, vrij van eiwit, werd op een kationenwisselaar gebracht. Hiervoor werd 0,16 g. Dowex Ag 50W-X8 gebruikt, waarvan in een Pasteurs pipet een kolom was gegoten. Hieraan werden de aminozuren gebonden. Na opbrengen werd de kolom met water gewassen totdat de doorgelopen vloeistof

neutraal was. De niet-gebonden stoffen waren hiermee verwijderd. Vervolgens werden de aminozuren en eventuele andere kationen met een ammoniumhydroxyde oplossing geëluëerd. Het eluaat werd bij 90°C onder een stikstofstroom drooggedampt.

Het derivatiseren van aminozuren

Tijdens dit proces werden de aminozuren omgezet in apolaire en bij hoge temperatuur vluchtige verbindingen zodat ze geschikt waren voor gaschromatografie. De zuurgroep van het aminozuur werd veresterd met propanol; de aminogroep werd afgeschermd met een acetaatgroep door een reactie met azijnzuuranhydride. De propylering van het aminozuurmonster vond plaats in watervrij milieu met behulp van n-propanol waarin droog zoutzuurgas tot 8N was opgelost. In een goed afgesloten vaatje werd dit mengsel gedurende 20 minuten tot 140°C verwarmd. Na afkoelen werd het vaatje geopend en werd de inhoud onder een stikstofstroom bij 90°C gedroogd. Na toevoegen van dichloormethaan werd het drogen herhaald. Voor de acetyleringsstap van de aminogroep werd een mengsel toegevoegd dat bestond uit azijnzuuranhydride, triaethylamine en aceton. Na mengen werd het monster gedurende 3 minuten in een waterbad verwarmd op 60°C.

Na afkoelen volgde drogen bij maximaal 50°C onder een stikstofstroom. Vervolgens werd het derivaat opgenomen in aethylacetaat waaraan natriumsulfaat was toegevoegd om resten water te binden. In gesloten vaatjes kon het materiaal nu worden bewaard tot latere analyse.

Gaschromatografie van gederivatiseerde aminozuren

Een gaschromatograaf bestaat uit een lange buis ("kolom") waarin zich vloeistof bevindt ("vloeibare fase"); in een capillaire kolom zit deze vloeistof als een film langs de wand. De kolom bevindt zich in een oven waarvan de temperatuur gevarieerd kan worden. Door de kolom loopt een constante stroom van een inert dragergas (helium).

Het te onderzoeken mengsel van aminozuurderivaten wordt op een zodanige temperatuur gebracht dat die componenten zich in de gasvormige fase bevinden. Tijdens de passage van het mengsel door de gaschromatografiekolom wordt een scheiding tot stand gebracht tussen de verschillende componenten van dat mengsel op basis van het verdelingsevenwicht tussen de gasvormige en vloeibare fase, dat voor elk van de componenten anders ligt. De meest vluchtige componenten passeren het snelst terwijl de minder vluchtige stoffen

pas later aan het einde van de kolom bij de detector verschijnen. Iedere stof heeft zijn eigen retentietijd, de tijd die verloopt tussen het injecteren van het monster op de kolom en het verschijnen van die component bij de detector. De specificiteit van de bepaling is vergroot door van een selectieve stikstofdector gebruik te maken (2).

Door de condities waaronder de analyse plaatsvindt nauwkeurig te kiezen - soort kolom, type vloeibare fase, injectietemperatuur, beloop van de oventemperatuur tijdens de analyse, stroomsnelheid van het dragergas - kan men ervoor zorgen dat van een bepaald mengsel alle componenten volledig van elkaar gescheiden worden. Als aparte "pieken" bereiken ze dan de detector waar de stof herkend wordt aan de retentietijd.

Gebruik is gemaakt van een gaschromatograaf (Hewlett Packard, 5830A, Avondale Pa, U.S.A.) met een automatische injector, een selectieve stikstofdector en een gekoppelde integrator plus rekenapparatuur. De scheiding vond plaats op een 12 meter lange fused silica capillaire kolom met als vloeibare fase SP-2100, kolomdiameter 0,21 mm., filmdikte 0,1 micrometer (Hewlett Packard, Avondale, Pa, U.S.A.). Als draaggas werd helium gebruikt met een doorstroomsnelheid van 1,2 ml./min.

Door de automatische injector werd voor iedere analyse 2 microliter monster geïnjecteerd. Een splitratio van 36:1 maakte dat 2,7% hiervan uiteindelijk op de kolom kwam. De injectortemperatuur bedroeg 240°C. De oventemperatuur steeg met verschillende gradienten van 100°C bij injectie tot uiteindelijk 250°C. De stikstofdector werkte bij een temperatuur van 260°C.

In een ingebouwde integrator werd het oppervlak onder iedere piek gemeten. De aminozuren in het onderzochte mengsel konden nu worden bepaald door vermenigvuldiging van de gemeten signalen van de detector met de response factoren die voor ieder aminozuur afzonderlijk met behulp van ijkmengsels bepaald waren.

Onderzoek naar de reproduceerbaarheid van de methode gaf een variatie coëfficiënt te zien die voor valine 14%, voor leucine 7% en voor isoleucine 13% bedroeg. Voor phenylalanine werd een coëfficiënt van 4,2 gevonden.

De meting van tyrosine en tryptofaan bleek niet te voldoen.

Deze beide stoffen zijn daarom fluorimetrisch gemeten (3,8,21).

Behalve voor de bepaling van de plasma-aminozuren werd de bovenbeschreven methode ook gebruikt voor de meting van 3-methylhistidine in de urine.

De Stikstofanalyse

Er zijn twee methoden gebruikt om stikstof te meten. Bij de eerste 8 balansen is gebruik gemaakt van een gemodificeerde Kjeldahl bepaling, waarbij stikstof wordt omgezet tot ammoniak, hetgeen vervolgens fotometrisch wordt gemeten (9) (Technicon auto analyser). Later is deze apparatuur wegens technische veroudering vervangen. Bij de volgende 4 stikstofbalansen en de metingen van de turnover snelheid van eiwit werd gebruik gemaakt van een methode waarbij stikstofhoudend materiaal volledig verbrand wordt. De stikstofoxyden worden vervolgens gereduceerd tot stikstofgas dat gemeten wordt (22).

Eerste methode

De destructie van de monsters en de aansluitende meting van ammoniak werd uitgevoerd in een zogenaamde "continuous flow analyser" (Technicon auto analysers). Omdat dit apparaat slechts waterige monsters kan verwerken, werd de faeces eerst gedestruëerd. Bij deze methode wordt het te onderzoeken monster in een glazen destructor gebracht. Hieraan wordt een destructiemengsel toegevoegd, bestaande uit geconcentreerd zwavelzuur, perchloorzuur en seleendioxyde. Het mengsel wordt sterk verhit in de destructor. Tijdens de passage door deze buis wordt de stikstof in ammoniak omgezet. Vervolgens wordt het monster gemengd met hypochloriet-oplossing waarna een oplossing van phenol (of acetosalicylzuur) in natriumhydroxide toegevoegd wordt. Na afkoelen wordt de ammoniakconcentratie in een doorstroomcolorimeter bij 630 nm. gemeten. Op een ijklijn, vervaardigd met standaarden met bekend stikstofgehalte, kan de stikstofconcentratie afgelezen worden.

Tweede methode

Voor de metingen met de methode van volledige verbranding werd gebruik gemaakt van een automatische stikstofanalysator (type ANA 1400, Carlo Erba, Italië). Bij deze techniek wordt het monster in een tinnen cupje gebracht dat via een automatische injector naar een verbrandingsoven wordt gevoerd. Tevens wordt een overmaat zuurstof in de oven gebracht. Bij circa 1700°C vindt volledige verbranding van zowel het cupje als het monster plaats met behulp van een katalysator systeem, bestaande uit nikkel-, zilver- en cobalt oxiden. Door de oven loopt een constante stroom van het dragergas (helium), die de verbrandingsproducten meevoert naar een reductieoven waar de stikstofoxiden worden gereduceerd tot stikstofgas. In twee volgende kolommen wordt het water en het koolzuurgas geabsorbeerd. Het overblijvende stikstofgas wordt met behulp van een korte chromatografiekolom geconcentreerd. Een Katharometer detector meet de concentratie van stikstof in het dragergas. Het

detectiesignaal wordt naar een integrator gevoerd die het piekoppervlak meet. Via een ijklijn, verkregen met materiaal met bekende stikstofconcentraties, wordt de onbekende stikstofconcentratie van het monster afgelezen. Het stikstofgas verlaat met de heliumstroom het apparaat. Desgewenst kan dit gas direct naar de massaspectrometer worden vervoerd ter analyse van de stikstofisotopenconcentraties.

De kwaliteit van de meting met deze stikstofanalysator werd gecontroleerd. De ijklijn bleek steeds recht te lopen tot ver buiten het gebied waarin normaal gemeten werd. Herhaalde metingen van de standaard hoeveelheid afgewogen ureum gaven een variatie coëfficiënt van 1,7% te zien.

Een aantal stoffen werd afgewogen en gemeten. Voor ureum werd 98%, voor leucine 98% en voor albumine 99,6% van de theoretische waarden gemeten in de stikstofanalysator. Een vergelijking van een meting van stikstof in de faeces tussen de stikstofanalysator en een klassieke Kjeldahl bepaling liet zien dat de stikstofanalysator 103% vond van het gehalte gemeten met de klassieke referentiemethode op dit gebied.

De conclusie was dat de stikstofanalysator een juiste meting gaf.

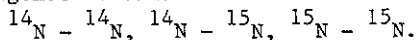
De massaspectrometrische bepaling van stikstof isotopen

Voor de massaspectrometrie is gebruik gemaakt van een massaspectrometer die werkt volgens het quadrupool principe (Centronics type 200 MGA, Centronics Croydon, Engeland). Dit apparaat is ontworpen voor het meten van een aantal gassen dat in de geneeskunde veelvuldig gebruikt worden - zuurstof, koolzuur, stikstof, alsmede indicator en narcosegassen. Het meetbereik loopt van 2 tot 200 atomaire massa eenheden. De resolutie is variabel en kan tot 1 atomaire massa eenheid opgevoerd worden. De toepassing bij dit onderzoek is geweest het meten van de stikstofatomen ^{14}N en ^{15}N . Natuurlijk stikstofgas bestaat voor 0,323% uit ^{15}N en verder voor 99,677% uit ^{14}N . Deze verhouding wordt in zijn algemeenheid ook teruggevonden in allerlei verbindingen waarin stikstof ingebouwd zit.

Bij het klinisch onderzoek, zoals beschreven in dit proefschrift, kreeg de patient ^{15}N glycine (99%) toegediend. Dit leidde tot een groter dan normale ^{15}N verrijking in allerlei metabolieten. Deze verandering in ^{15}N verrijking vormde de te meten grootheid.

In de stikstofanalysator, die voor de massaspectrometer geplaatst was, vormt zich elementair stikstof dat zich direct weer verbindt tot N_2 moleculen.

Hierbij kunnen de volgende combinaties ontstaan:



Dit zijn dus producten met respectievelijk massa 28, 29 en 30.

De kans dat een ^{14}N atoom zich met een ^{15}N atoom verbindt, is evenredig met de relatieve concentraties en bedraagt dus $99,677 \times 0,323 = 32,2$. De kans op een $^{15}\text{N} - ^{15}\text{N}$ molecuul is $0,323 \times 0,323 = 0,104$. Verreweg de grootste kans is die op het ontstaan van $^{14}\text{N} - ^{14}\text{N}$: $99,677 \times 99,677 = 9936$. De relatieve verhoudingen tussen deze moleculen zal dus worden: $95532 : 309 : 1$.

De verrijking met ^{15}N werd in de praktijk gemeten door massa 29 ($^{14}\text{N} - ^{15}\text{N}$), te vergelijken met massa 28 ($^{14}\text{N} - ^{14}\text{N}$). Massa 30 kon worden verwaarloosd.

Het signaal van de massaspectrometer werd op een 2-kanaals recorder geschreven. Door opmeten van de piekhoogten, of oppervlakten, kreeg men 2 getallen die de verhouding tussen ^{14}N en ^{15}N aangaven. Om te komen tot absolute hoeveelheden werden een aantal mengsels met verschillende, bekende verhoudingen tussen ^{14}N en ^{15}N gemaakt en gemeten. Hiermee kon een ijklijn worden geconstrueerd en op deze curve kon worden afgelezen welke concentratie stof bij een bepaalde piekhoogte hoorde. Aan het begin en aan het eind van iedere serie metingen werd een ijklijn bepaald. Ieder monster werd in triplo gemeten. Tussen iedere 2 monsters door wordt steeds 1 standaard meegemeten. Het laagste punt op de ijklijn was een verrijking van ureum met ^{15}N van 0,373%, de natuurlijke verrijking. Hierboven werden hogere concentraties gemaakt van 0,476, 0,578, 0,680 en 0,782% door aan een standaard ureum oplossing verschillende hoeveelheden ^{15}N ureum toe te voegen. De ijklijn bleek steeds recht te verlopen, ook bij hogere percentages verrijking.

Bij herhaald meten van normaal ureum werd een gemiddelde verrijking gevonden van 0,3743% op 84 metingen. De variatie coëfficiënt was 1,3%. Bij hogere concentraties werd een kleinere spreiding gevonden (variatie coëfficiënt 1,1% bij 0,514% verrijking). Bij nog hogere verrijking werd de spreiding weer kleiner; deze mate van verrijking komt in biologisch materiaal echter nauwelijks voor. Bij de methode, zoals hier beschreven, moet met een spreiding van 1,1 - 1,3% rekening worden gehouden.

De meting van de eiwitturnover

Bij het onderzoek naar de eiwitturnover met behulp van gemerkt stikstof, is gebruik gemaakt van het model beschreven door Picou (103,125). Hierin wordt de stikstof in het lichaam beschouwd te zijn verdeeld over twee "pools", de aminozuurpool en de eiwitpool. Men meet de doorstroming ("flux") van de aminozuurpool en berekent daaruit de snelheid van eiwitsynthese en

eiwitafbraak. Als meetmethode binnen dit model werd gekozen voor een techniek (29,131) waarvan gebleken was dat ze in het bijzonder geschikt was voor toepassing in de klinische situatie (129). Hierbij wordt de aminozuurpool van het lichaam gemerkt met het aminozuur glycine, waarvan de moleculen voor 99% het isotoop ^{15}N als stikstofatoom bevatten. De stikstofflux wordt berekend uit de cumulatieve uitscheiding van het isotoop in de urine. De urine dient hierbij over een zorgvuldig gekozen periode verzameld te worden. Door het gebruik van een stabiel niet radioactief isotoop is deze methode - veilig. Ze kan in principe zo vaak als nodig is herhaald worden.

Het model

De methode gebruikt voor het meten van de eiwitturnover en de snelheid van de eiwitsynthese en eiwitafbraak, gaat uit van het onderstaande model (Fig.III-1).

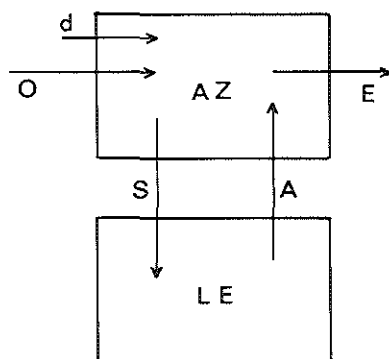


FIG.III-1. HET MODEL VOOR DE STIKSTOFTURNOVER.

AZ stelt de metabole aminozuurpool voor, een denkbeeldige ruimte waarin zich alle aminozuren bevinden. LE is de lichaamseiwitpool, eveneens een denkbeeldige ruimte. Aminozuren die met het voedsel het lichaam binnenkomen (O = opname) komen alle in de aminozuurpool terecht. Ook aminozuren afkomstig uit afbraak van lichaamseiwit - A (= afbraak) - komen in deze pool. De aminozuurpool wordt geacht homogeen te zijn zodat alle lichaamscellen waar eiwitsynthese plaatsvindt eenzelfde aminozuuraanbod ter beschikking staat. De aminozuurpool wordt voor het uitvoeren van het turnoveronderzoek gemerkt met een dosis - d - van het gekozen isotoop, ingebouwd in het aminozuur glycine.

Aminozuren verlaten de aminozuurpool weer om in de weefsels te worden gebruikt bij de synthese van lichaamseiwit. Dit proces wordt weergegeven door de pijl S (synthese). Bovendien worden aminozuren afgebroken en wordt de stikstof daaruit geschikt gemaakt voor verwijdering uit het lichaam voornamelijk als ureum. Het totale verlies uit de aminozuurpool wordt voorgesteld door de pijl E (excretie).

Als stikstof eenmaal in ureum is ingebouwd, is ze verder voor de eiwitstofwisseling verloren. Toch verschijnt ureum niet steeds direct in de urine maar kan nog enige tijd in het lichaam aanwezig blijven. Deze pool van ureum is niet altijd even groot; ze neemt toe tijdens voeden en neemt af bij vasten. Bij het meten van de stikstofuitscheiding tijdens korte termijn onderzoek - zoals hier verricht - moet het ureumverlies met de urine gecorrigeerd worden voor veranderingen in de lichaams ureumpool ("uitgesteld verlies"). Aangenomen wordt dat het totale lichaamswater tijdens het onderzoek constant is.

Andere stikstofverliezen zoals in de faeces, via de huid, etc. worden in dit model verwaarloosd; deze verliezen zijn moeilijk meetbaar, maar bovendien zijn ze relatief klein en grotendeels constant.

Als men werkt met dit model, bestudeert men, net als bij het balansonderzoek in feite de stikstofstofwisseling als afspiegeling van de eiwitstofwisseling. Het met dit model te onderzoeken fenomeen is de stikstofflux door de aminozuurpool. Onder de stikstofflux verstaat men de totale doorstroming van de aminozuurpool; dat wil zeggen het totaal aan aminozuren dat per tijdseenheid de aminozuurpool binnenkomt of die pool verlaat.

Aannames bij de meting van de eiwitturnover

Om met het bovenbeschreven model te kunnen werken, is het nodig een aantal aannames te formuleren.

- 1) De metabole aminozuurpool (AZ) is homogeen. Alle aminozuren afkomstig uit het voedsel of uit afbraak van lichaamseiwit komen in deze pool terecht en verdelen zich daarover gelijkmatig. Ook de "label" verdeelt zich hierover gelijkmatig. De aminozuren verlaten deze pool vervolgens weer om te worden gebruikt voor eiwitsynthese of om te worden afgebroken tot ureum of andere producten ("eindproducten").
- 2) Er is geen verschil in behandeling in de processen van eiwitsynthese en ureumvorming tussen aminozuren afkomstig uit het voedsel en die afkomstig uit afbraak van lichaamseiwit.

- 3) Er is geen verschil in de behandeling in de processen van eiwitsynthese en ureumvorming tussen aminozuren met ^{14}N stikstof en aminozuren waarin ^{15}N stikstof ingebouwd is. Dat wil zeggen, in alle stikstofhoudende producten die in een bepaalde tijdsperiode worden gesynthetiseerd, vindt men dezelfde verhouding tussen ^{14}N en ^{15}N , een verhouding die bovendien gelijk is aan die waarin ^{14}N en ^{15}N zich op dat moment in de aminozuur pool bevinden.
- 4) In de tijd waarin de meting van de stikstof flux plaatsvindt, treedt er geen afbraak op van eiwit dat in deze zelfde tijd gesynthetiseerd is. Er is dus geen terugkeer van isotoop uit de lichaamseiwitpool tijdens de meting.
- 5) Tijdens het onderzoek bestaat er evenwicht tussen de metabole processen; de aminozuurpool en de lichaamseiwitpool veranderen niet van grootte.
- 6) De hoeveelheid ^{15}N glycine is verwaarloosbaar klein ten opzichte van het in de pool aanwezige ^{14}N glycine.

De meting van de stikstof flux

De metabole aminozuurpool (AZ) wordt met ^{15}N glycine gemerkt. In een zekere tijd verdwijnt deze label weer geheel uit de aminozuurpool. Deze klaring van de label vindt plaats door inbouw in eiwit en ook door uitscheiding in de urine in een "eindproduct" (bv. ureum, ammoniak). Men meet de flux door de klaring van de label in enigerlei eindproduct te bestuderen. Het maakt in principe niet uit welk eindproduct men daarvoor kiest. In dit onderzoek is de flux zowel met ammoniak als ook met ureum als eindproduct gemeten.

In die periode van klaring wordt van de totale hoeveelheid isotoop die in de aminozuurpool aanwezig was (= d) een fractie in de urine uitgescheiden in een "eindproduct" (= e_x).

In die zelfde periode van klaring wordt van de totale hoeveelheid niet gemerkte stikstof die in de aminozuurpool aanwezig was ook een fractie uitgescheiden in dat zelfde eindproduct (= E_x).

Aangenomen dat de hoeveelheid ^{15}N te verwaarlozen is vergeleken met de hoeveelheid ^{14}N stikstof in aminozuren dan is de hoeveelheid ongemerkte stikstof die de aminozuurpool in die tijdsperiode verlaten heeft per definitie gelijk aan de stikstof flux (Q).

Wanneer de bovenbeschreven aanname 3 correct is en er inderdaad geen verschil is in behandeling tussen ^{14}N en ^{15}N bevattende moleculen, dan kunnen we de bovenbeschreven gang van zaken samenvatten in de vergelijking

$$e_x/d = E_x/Q$$

waaruit volgt

$$Q = d \cdot E_x / e_x$$

De keuze van de tijd gedurende welke de urine verzameld moet worden, is essentieel; ze is gebaseerd op de tijd die het kost om de metabole aminozuurpool juist geheel van isotoop te klaren. Kiest men deze periode te lang, dan treedt er "verdunning" op van de mate van isotoopverrijking in de urine door eindproduct dat is verschenen nadat de uitscheiding van het isotoop reeds voltooid was. Bovendien dreigt dan het gevaar van terugkeer van de label uit de lichaamseiwitpool door afbraak van eerder tijdens het onderzoek gesynthetiseerd eiwit waarin isotoop was ingebouwd. Wanneer daarentegen de verzamelperiode te kort gekozen wordt dan is de aminozuurpool nog niet geheel vrij van isotoop en verandert de mate van isotoopverrijking in de urine nog steeds. De snelheid waarmee de metabole aminozuurpool van een ^{15}N label wordt geklaard, is uit de literatuur bekend (132). Figuur III-2 geeft een beeld van het verloop in de tijd van de verandering in de mate van isotoopverrijking in de op dat moment geproduceerde urine. In figuur VI-1 staan dezelfde gegevens als in figuur III-2 weergegeven maar dan als de cumulatieve uitscheiding van isotoop in de tijd.

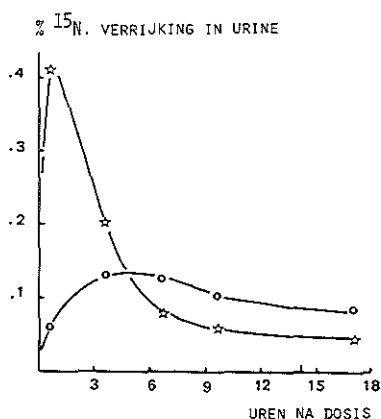


FIG. III-2. % ^{15}N . VERRIJKING (o) IN UREUM; (x) IN AMMONIAK.

Voor ammoniak stijgt de atoomverrijking in de urine snel en daalt vervolgens ook weer snel om na ongeveer 9 uur weer op het basale niveau teruggekeerd te zijn. Ook de cumulatieve uitscheiding van isotoop in ammoniak is dan vrijwel voltooid (132).

Bij ureum komt de excretie veel trager op gang; ze heeft ook meer tijd nodig om voltooid te worden. Ook de cumulatieve uitscheiding toont deze vertraging. Toch heeft ook hier de inbouw van isotoop in ureum binnen de 9 uur plaatsgevonden.

Deze verschillen in uitscheiding zijn te verklaren uit de grote lichaamsspool voor ureum die tot deze vertraging aanleiding geeft (132). De lichaamsspool voor ammoniak is verwaarloosbaar klein. De consequentie hiervan is dat, wil men ureum als eindproduct gebruiken voor de meting van de stikstofflux, men rekening moet houden met deze vertraging in de uitscheiding. Dit kan men doen door aan het eind van de 9 uren verzamelperiode de verrijking met isotoop van het ureum in de plasma ureumpool te meten en daarvoor in de berekeningen te corrigeren (29). Het alternatief - langer wachten totdat de uitscheiding van met isotoop gemerkt ureum voltooid is - komt niet in aanmerking omdat dan het gevaar dreigt van de terugkeer van de label uit de eiwitpool. In dit onderzoek is de flux zowel met ammoniak als met ureum gemeten. Tevens werd de gemiddelde waarde van beide metingen berekend.

In de formule

$$Q = d(E_x/e_x)$$

is E_x/e_x de uiteindelijke mate van isotoopverrijking in het gekozen eindproduct op het ogenblik dat de aminozuurpool geheel van het gegeven isotoop is geklaard. Men bepaalt deze verrijking door de isotoopverrijking in de urine aan het eind van het onderzoek te verminderen met de verrijking die voor de start van het onderzoek reeds aanwezig was (de natuurlijke verrijking).

Als de stikstofflux eenmaal bekend is dan kan men de snelheid van de eiwitsynthese en -afbraak berekenen met de formule:

$$Q = S + E = A + O.$$

Deze formule volgt direct uit aanname 5 die zegt dat er tijdens de meting van de stikstofflux in het lichaam metabool evenwicht bestaat. De gebruikte eenheden in deze vergelijking zijn steeds grammen stikstof per tijd. Bij meting in de vastende toestand is O gelijk aan nul zodat daar B gelijk is aan de flux Q.

Gegevens benodigd voor de stikstoffluxmeting

Teneinde de stikstoffluxmeting uit te kunnen voeren, is het nodig de volgende gegevens te verzamelen:

- . d = dosis ^{15}N glycine (mg.)
- . de verhouding $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ in de basale urineportie
- . de verhouding $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ in de 9 uurs portie
- . E = de in de 9 uurs portie uitgescheiden hoeveelheid stikstof (g.)
- . O = de tijdens de 9 uren van het onderzoek opgenomen hoeveelheid stikstof (g.)
- . het plasma ureum op t = 0 uur (start onderzoek; mmol/l.)
- . het plasma ureum op t = 9 uur (eind verzamelperiode; mmol/l.)
- . het totale lichaamswatercompartiment (l33)
- . de verhouding $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ van het plasma ureum op t = 9 uur (indien ureum als eindproduct gebruikt wordt).

De nauwkeurigheid van de eiwitturnover meting

In alle grootheden zoals synthese, afbraak en flux, die uit primaire metingen berekend worden, vindt men een zekere spreiding ten gevolge van meetfouten.

De onnauwkeurigheden kunnen het gevolg zijn van fouten in de dosering van de voeding of de label, van fouten bij de verzameling van excreta, van fouten bij de verwerking van materialen in het laboratorium en bij de uiteindelijke metingen en bovendien van biologische variaties bij de onderzochte personen.

Met behulp van de spreiding waargenomen in de primaire meetwaarden is dan, met de voortplantingsregels voor fouten, de spreiding in de eindresultaten te berekenen.

Voor de meetprocedure alleen van de flux berekend op ammoniak werd een variatiecoëfficiënt gevonden van 2,9%; voor de flux berekend op ureum was dit 7,3%.

Voor de procedure als geheel werd bij 5 personen (4 controles en 1 patient) van wie herhaalde metingen beschikbaar waren, een foutenanalyse gemaakt.

Hieruit bleek dat voor de flux - berekend als gemiddelde waarde op ammoniak en ureum - de variatiecoëfficiënt 10% bedroeg.

Uitvoering van de meting van de eiwitturnover

De meting van de eiwitturnover is in verschillende situaties verricht. Het uitgangspunt bij de methode is steeds dat er tijdens het onderzoek metabool evenwicht moet bestaan. De te onderzoeken persoon dient dan ook voor het

begin van het onderzoek in metabool evenwicht (steady state) te zijn of daarin te worden gebracht. Er werd onderzoek verricht in zowel de gevoede toestand alsook vastend. Een evenwichtssituatie in vastende toestand werd geacht te bestaan vanaf 6 uur na de laatste maaltijd. Evenwichtscondities in de gevoede toestand werden bereikt en vervolgens onderhouden door de patient vanaf twee uur voor de start van het onderzoek, en daarna gedurende het gehele onderzoek, elk uur een gelijke hoeveelheid voeding te geven.

Voorafgaand aan een verzamelperiode van 9 uur werd een urineportie opgevangen. Deze diende om daarin de basale verrijking van stikstof ^{15}N te meten. Na afloop van de 9 uren verzamelperiode werd de eerstkomende urineportie opgevangen. Er is aangenomen dat de verrijking met ^{15}N van het ureum van deze urineportie gelijkgesteld mocht worden met de verrijking met ^{15}N van het plasma ureum op het eind van de 9 uren verzamelperiode. Deze procedure werd gevolgd omdat bepaling van de verrijking direct in het plasma ureum een onacceptabel grote bloedafname nodig zou hebben gemaakt.

Aan het begin en aan het einde van de 9 uren verzamelperiode werd een plasmonster genomen voor chemische ureumbepaling.

In de praktijk zag het verzamelschema er als volgt uit.

De meting in de vastende toestand

De patient gebruikte de laatste maaltijd voor 18.00 uur, daarna niets meer. Voor 24.00 uur werd een "basale" urineportie opgevangen. Om 24.00 uur kreeg de patient de label, 200 mg. ^{15}N glycine (99%), oraal toegediend. Ook werd dan een venapunctie verricht. De patient kon nu gaan slapen. Tussen 24.00 en 09.00 uur werd alle urine verzameld. Om 09.00 uur volgde een tweede venapunctie; daarna mocht de patient weer eten. De eerstvolgende urineportie werd eveneens verzameld.

De meting in gevoede toestand

De patient kreeg de eerste portie voeding om 07.00 uur en vervolgens te 08.00, 09.00, 10.00, 11.00, 12.00, 13.00, 14.00, 15.00, 16.00 en 17.00 uur. Om 09.00 uur mocht de patient uitplassen; dit was de basale urineportie. Dan werd 200 mg. ^{15}N glycine (99%) oraal gegeven en er werd een venapunctie verricht. Vervolgens verzamelde de patient de urine tot 18.00 uur. Dan werd weer een venapunctie verricht. De eerstkomende urineportie na 18.00 uur werd eveneens bewaard. Het onderzoek was daarmee afgesloten.

De verstrekte voeding

Naast metingen in de vastende toestand gedurende welke in het geheel geen voedsel gegeven werd, zijn er verschillende dieten gegeven voor metingen van de eiwitturnover in de gevoede toestand.

- 1) De "normale" voeding. Als standaard "normale" voeding is beschouwd een dieet dat per dag 1 gram eiwit en 25 kcal. (105 kJ.) per kilogram lichaams gewicht verschaft. Van dat dieet moesten er 11 gelijke porties met bekende samenstelling gemaakt worden. Dit is bereikt door gebruik te maken van een commercieel verkrijgbaar product van constante samenstelling. Gekozen is voor Nutrison^R (Nutricia, Zoetermeer, Holland), een kant en klare sondevoeding op melkeiwitbasis waaraan als caloriebron dextrine-maltose en plantaardig vet is toegevoegd. 25 ml. van dit product bevat 25 kcal. (105 kJ.); per 25 kcal. is één gram eiwit aanwezig. De dagdosering was dus 25 ml./kg.
- 2) Een eiwitarm dieet. Dit was een dieet waarbij 25 kcal. (105 kJ.) en 0,5 gram eiwit per kilogram lichaamsgewicht werd verstrekt. Wederom werd gebruik gemaakt van Nutrison^R waarvan in dit onderzoek 12,5 ml./kg. gegeven werd. Het aantal calorieën dat zich hierin bevond, was de helft van het gewenste aantal. Dit werd aangevuld tot het niveau van 25 kcal./kg. met behulp van Cal 400^R (Roussel Laboratoria, Hoevelaken, Holland). Dit is een glucose polymeer, die in water werd opgelost en met Nutrison^R vermengd.
- 3) Een dieet met eiwit verrijkt met vertakte-keten aminozuren. Hierbij werd eveneens gebruik gemaakt van de combinatie Nutrison^R en Cal 400^R. Het eiwit werd verrijkt met vertakte-keten aminozuren door aan Nutrison^R een hoeveelheid van het zelfde aminozuurpoeder toe te voegen dat eerder tijdens het balansonderzoek was gebruikt. Een evenredig deel van het natuurlijke eiwit werd weggelaten; ook hier werd gestreefd naar een uiteindelijke verrijking tot 35% (gewicht) met vertakte keten aminozuren. De stikstofdosering was meestal 0,5 g./kg.; eenmaal werd 0,67 g./kg. gegeven.

Uitvoering van de meting van de stikstofflux

Bewerking van de urine voor de fluxmeting met ammoniak

Urine werd opgevangen in een fles waarin 1 ml. 10M zwavelzuur aanwezig was. Hieruit werd een 100-200 ml. monster genomen. Dit werd bij -70°C drooggevroren en tot het moment van verder bewerken opgeslagen bij -20°C. Bij

verdere bewerking werd het monster opgenomen in 10 ml. water en in een gas absorber buis gebracht; met behulp van NaOH werd de pH op 12-13 gesteld.

Het vrijkomende ammoniakgas werd in een inerte gasstroom (stikstof) overgedestilleerd naar een tweede gasabsorber buis waarin 10 ml. 0,1 M HCl zat.

Na droogdampen bleef er NH_4Cl als vaste stof over die verder kon worden gebruikt voor de metingen.

Bewerking van de urine voor de fluxmeting met ureum

Eerste stappen identiek als bij de ammoniakmethode.

Na het stellen van de pH op 12-13 eerst volledig overdestilleren van het vrijkomende ammoniak (controle m.b.v. lakmoespapier in de gasstroom)

De NH_3 vrije urine werd vervolgens m.b.v. HCl op pH. 6,5 gebracht, hieraan werd 2 ml. 2M fosfaatbuffer (pH. 6,5) en urease (12,5 U) toegevoegd, gemengd en geïncubeerd gedurende 2 uur bij 37°C, waarbij ureum in ammoniak omgezet werd.

Na incubatie werd de pH. gesteld op 12-13 en wordt het ammoniak overgedestilleerd als tevoren beschreven.

Presentatie van de gegevens van het turnoveronderzoek

De resultaten van het onderzoek zijn samengevat in de tabellen IX-17 tot IX-24 in de appendix. In deze tabellen staat steeds de flux weergegeven zoals die gemeten is zowel met ammoniak als met ureum als eindproduct. Tevens staan in die tabellen de met behulp van deze fluxen berekende waarden voor de snelheid van eiwitsynthese (s) en eiwitafbraak (A) vermeld.

De metingen op de verschillende "diëten" - 1 gram eiwit, 0,5 gram eiwit vastend en eiwit verrijkt met vertakte-keten aminozuren - zijn opgenomen in aparte tabellen. Alle uitslagen in de tabellen IX-17 tot IX-24 zijn uitgedrukt in grammen stikstof per 9 uur. Teneinde de uitkomsten van de verschillende personen onderling beter vergelijkbaar te maken, zijn de getallen vervolgens betrokken op het lichaamsgewicht. In tegenstelling tot bovengenoemde tabellen werden alle uitslagen in hoofdstuk VI uitgedrukt in milligrammen stikstof per kilogram per 9 uur. De groepen patiënten en controlepersonen die op de verschillende voedingsregimes zijn vergeleken, zijn niet steeds even groot geweest. Dit maakte het onmogelijk bij de statistische bewerking van de resultaten van een gepaarde test gebruik te

maken. Tenzij anders vermeld zijn dan ook alle significanties berekend met de tweezijdige en ongepaarde symmetrietoets volgens Wilcoxon.

HOOFDSTUK IV

RESULTATEN VAN HET BALANSONDERZOEK

In dit hoofdstuk zal een deel van de resultaten besproken worden van het verrichte balansonderzoek. Bij het balansonderzoek werden de klinische en de metabole effecten bestudeerd van variaties, zowel in de hoeveelheid eiwit in het dieet, alsook in de kwaliteit van het aangeboden eiwit. De effecten van variaties in de kwaliteit van het eiwit komen aan de orde in hoofdstuk V; de effecten van variaties in de hoeveelheid eiwit worden in dit hoofdstuk beschreven.

Het onderzoek in dit hoofdstuk beschreven valt in twee series uiteen.

De eerste serie bevat een balansonderzoek bij een 8-tal patienten met levercirrhose, bij wie het effect op de stikstofbalans werd nagegaan van het doen toenemen van de hoeveelheid stikstof in het dieet. Uit deze gegevens viel te berekenen wat de minimale stikstofbehoefte voor deze groep van patienten was. Tevens werd onderzocht in hoeverre de mate van encephalopathie door de stikstofbalans bepaald wordt. In een tweede serie balansen kwam de vraag aan de orde naar het effect van de maaltijdfrequentie op de stikstofbalans .

EERSTE SERIE BALANSEN

De onderzochte patienten

Het onderzoek is verricht bij de volgende patienten:

Patient 1, een man van 61 jaar, was tot 26-jarige leeftijd gezond; toen werd hij conservatief behandeld vanwege een peri-anale fistel en abces. Twintig jaar later werd hij geopereerd; er werd een dunnedarmresectie verricht wegens

fistels naar de blaas, het colon en de buikwand. De diagnose M. Crohn werd gesteld. Vanaf 3 jaar voorafgaand aan het balansonderzoek maakte patient een aantal perioden door met agressief gedrag en desoriëntatie, enkele malen ontstond zelfs coma. Er bleek een macronodulaire levercirrhose te bestaan. Ook stelde men een dunnedarmstenose vast; in het gedilateerde prestenotische gedeelte van de darm werd bacteriele overgroei gevonden. Het recidiverende coma werd geduid als een metabool coma, passend bij leverinsufficiëntie, uitgelokt door excessieve ammoniakproductie in de zieke darm. Op een eiwitbeperkt dieet knapte patient op; bij herhaling bleek dat recidieven van de encephalopathie door dieetfouten verklaard konden worden. Tijdens het balansonderzoek gebruikte patient als medicatie 15 ml. Lactulose per dag.

Patient 2, een man van 49 jaar, heeft vanaf jong volwassen leeftijd steeds veel alcohol gedronken. Op 47-jarige leeftijd werd hij wegens koorts en icterus opgenomen in een ziekenhuis. Er bleek een alcoholische hepatitis te bestaan; een biopsie toonde tevens het bestaan van levercirrhose aan. Er waren oesophagusvarices, alsook een caput Medusae. Wegens recidiverende bloedingen uit de vaten van het caput Medusae moest op 47-jarige leeftijd een mesocavale shunt aangelegd worden. Wegens lichte chronische encephalopathie kreeg patient tevens een 40 gram eiwitbeperkt dieet. Een jaar later volgde wederom opname, nu vanwege haematemesis, op basis van een ulcus ventriculi. De encephalopathie nam in deze fase sterk toe. Direct na de klinische behandeling van het ulcus, en meer dan twee maanden na de bloeding, werd bij patient balansonderzoek verricht. Tijdens dit onderzoek gebruikte hij als medicatie: Lactulose 2 maal 25 ml. per dag, Ferrofumaraat 3 maal 200 mg. en Cimetidine 5 maal 200 mg.

Patient 3, een vrouw van 52 jaar, werd een jaar voor het balansonderzoek in een ziekenhuis opgenomen vanwege een thrombosebeen. Er bleken gestoorde transaminasen te bestaan. Bij onderzoek hiernaar vond men een macronodulaire levercirrhose op basis van een chronisch actieve hepatitis. In het jaar dat volgde, traden een 3-tal bloedingen op uit oesophagusvarices. Bij deze bloedingen raakte patiente steeds in coma. Op 52-jarige leeftijd werd een mesocavale shunt aangelegd. Patiente kreeg een eiwitbeperkt dieet. Na herstel van deze operatie werd patiente op de balansafdeling onderzocht. Tijdens het onderzoek gebruikte zij als medicatie: Lactulose 2 maal 30 ml., Prednison 10 mg., en furosimide 20 mg. per dag.

Patient 4, een vrouw van 42 jaar, had op 19-jarige leeftijd longtuberculose doorgemaakt. Op 40-jarige leeftijd werd zij in het ziekenhuis opgenomen

vanwege een longontsteking. Er bleek toen een splenomegalie te bestaan en er waren spider naevi. Bij verder onderzoek werd een micronodulaire levercirrhose met portale hypertensie en hypersplenisme gevonden. Twee jaar later moest patiënte wederom worden opgenomen vanwege sufheid, toenemend tot een precoma toe, ontstaan tijdens een behandeling met diuretica vanwege ascites. Na verminderen van de diuretica en op een 40 gram eiwit dieet bleek zij psychisch helder en in stabiele toestand te zijn. Zij werd op de balansafdeling opgenomen om te trachten een optimaal dieet vast te stellen. Tijdens het balansonderzoek gebruikte zij als medicatie: Lactulose 2 maal 30 ml. en Spironolacton 4 maal 25 mg.

Patient 5, een man van 52 jaar, werd op 18-jarige leeftijd voor lues behandeld. Overigens was hij gezond tot op 51-jarige leeftijd; toen ontstonden er grove tremoren aan de handen, concentratiestoornissen, slaperigheid, decorumverlies, bradyfrenie en perioden met depersonalisatie. Neurologisch onderzoek leverde geen zekere diagnose op, neurolues kon niet worden aangetoond. Wel bleek er een micronodulaire levercirrhose te bestaan ten gevolge van chronisch actieve hepatitis. Behandeling als voor porto-systemische encephalopathie gaf een zeer aanzienlijke verbetering; toch herstelde hij niet geheel. Balansonderzoek werd verricht om de stikstoftolerantie van patient na te gaan. Tijdens dit onderzoek gebruikte hij als medicatie: Lactulose 5 maal 30 ml. en Furosemide 20 mg.

Patient 6, een vrouw van 50 jaar, bezocht op 49-jarige leeftijd haar arts vanwege spontane haematomen. Er bleek een thrombocytopenie te bestaan door hypersplenisme bij portale hypertensie, ten gevolge van een micronodulaire levercirrhose op basis van chronisch actieve hepatitis. De activiteit van de hepatitis op dat moment was matig. Een jaar later ontstond ascites. Tijdens behandeling hiervoor met diuretica geraakte patiënte in coma. Ook werd er toen diabetes mellitus gevonden met een ernstige hyperglycaemie maar zonder acidose. Patiënte herstelde van het coma. Zij kreeg een eiwitbeperkt en suikervrij dieet. Een maand later volgde het balansonderzoek. Zij gebruikte toen 30 ml. Lactulose en 10 mg. Amiloride per dag.

Patient 7, een vrouw van 73 jaar, kreeg rond haar 55ste levensjaar last van een vol en pijnlijk gevoel in de rechter bovenbuik. Op 70-jarige leeftijd ontstond ernstige en chronische vermoeidheid. Kort daarop werd de buik geleidelijk dikker en kreeg patiënte opgezette enkels. Zij kreeg last van jeuk. Twee jaar later deed er zich een oesophagusvaricesbloeding voor; patiënte werd geopereerd, er werd een mesocavale shunt aangelegd. Een

leverbiopsie toonde een primair biliaire cirrhose met geringe ontstekingsactiviteit. Postoperatief was patiënte geruime tijd extra moe, zij was duizelig, sliep slecht en was vergeetachtig. Balansonderzoek werd verricht om de eiwittolerantie na te gaan. Tijdens het onderzoek gebruikte patiënte als medicatie: Lactulose 30 ml., Furosemide 2 maal 40 mg., Amiloride 5 mg. en Colestyramine 2 maal 4 g.

Patient 8, een man van 40 jaar, was vanaf zijn 25ste levensjaar alcoholist. Op 40-jarige leeftijd werd hij opgenomen vanwege haematemesis en melaena nadat hij kort tevoren icterisch geworden was. De bloeding was uit oesophagusvarices afkomstig. Patient werd met spoed geopereerd; er werd een mesocavale shunt aangelegd. Er bleek een alcoholische levercirrhose te bestaan. Postoperatief was hij licht encephalopathisch. Na herstel van de operatie werd balansonderzoek gedaan. Tijdens dit onderzoek gebruikte patient Lactulose 3 maal 30 ml.

De voedingstoestand van de patienten

Gegevens betreffende de voedingstoestand van de patienten zijn vermeld in tabel IV-1.

Tabel IV-1. Gegevens betreffende de lichaamssamenstelling

	L	G	G/L	Q	C/L
m., 61	1,66	44,3	69	16,1	49
m., 49	1,79	85,2	116	26,6	92
v., 52	1,63	52,7	89	19,8	84
v., 42	1,56	56,4	104	23,2	93
m., 52	1,76	82,9	119	26,8	98
v., 50	1,67	78,5	129	28,5	84
v., 73	1,58	52,8	96	21,2	77
m., 40	1,87	101,1	127	28,9	94

NB. L = lengte (m.), G = gewicht (kg.), G/L = gewicht/lengte index,

Q = Queteletindex, C/L = creatinine/lengte index.

Eén patient (m., 61) heeft een verlaagde Queteletindex en ook de gewicht/lengte index is bij hem verlaagd, beiden wijzend op een matig ernstig gestoorde voedingstoestand. De creatinine/lengte index suggereert het bestaan

van ernstige tekorten in de vetvrije lichaamssmassa. Drie patienten (v., 52, v., 42, v., 73) hebben een normale Queteletindex. Eén van deze drie (v., 52) heeft een licht en één (v., 73) een matig sterk verlaagde creatinine/lengte index, wijzend op een in verhouding tot het lichaamsgewicht kleine vetvrije lichaamssmassa. De gewicht/lengte index is bij een van deze patienten vrijwel normaal. Vier patienten hebben een verhoogde Quetelet index en bij alle vier is ook de gewicht/lengte index verhoogd; er lijkt dus overgewicht te bestaan. Wel is de creatinine/lengte index bij deze vier patienten normaal. Slechts 1 patient is normaal betreffende alle voornoemde criteria.

De gekozen diëten

Voorafgaand aan de opname op de balansafdeling hebben de patienten met de diëtiste gesproken en hebben aangegeven hoeveel zij wensten te eten en welke voedingsmiddelen zij prefereerden. Op grond van deze gegevens is berekend hoeveel calorieën het dieet voor iedere afzonderlijke patient moest bevatten. De resultaten van deze berekeningen zijn weergegeven in tabel IV-2. Tevens is in die tabel opgenomen hoeveel calorieën iedere patient volgens gangbare normen zou moeten gebruiken.

Tabel IV-2. De diëten

	berekende caloriebehoefte			gekozen diëten			
	BEE x 1,2			BEE _{x1,2}			
	kcal	(kJ.)	kcal./kg.	kcal	(kJ.)	%	kcal./kg.
m., 61	1313	(5494)	30	2209	(9242)	168	50
m., 49	2163	(9050)	25	1849	(7736)	85	22
v., 52	1473	(6163)	28	1772	(7414)	120	30
v., 42	1556	(6510)	28	1968	(8234)	126	31
m., 52	2083	(8715)	25	2119	(8866)	102	23
v., 50	1802	(7540)	23	1569	(6565)	87	17
v., 73	1345	(5627)	25	1902	(7958)	141	32
m., 40	2547	(10657)	25	2279	(9535)	89	20

NB. BEE = basal energy expenditure.

Het blijkt dat het aantal calorieën in het gekozen dieet van 7 van de 8 patienten niet sterk van het voor hen berekende aantal afwijkt, zodat daar de

caloriedosering als juist beschouwd mag worden. Een patient kiest veel meer calorieën dan hij volgens de normen zou moeten krijgen. Dit is goed verklaarbaar uit de gebrekkige efficiëntie van de resorptie in zijn zieke darm. Drie patienten krijgen een relatief caloriearm dieet. Bij de vrouw van 50 jaar is dit ook gewenst. Ter behandeling van haar maturity onset diabetes was haar een dergelijk dieet voorgeschreven. De andere 2 patienten hadden een overgewicht ten gevolge van flink alcoholgebruik, en ook daar is het uiteindelijk bereikte dieet redelijk gekozen.

Tijdens de verschillende balansperioden werd het aantal calorieën in het dieet steeds constant gehouden. De eiwithoeveelheid veranderde echter. Dit houdt in dat de verhouding tussen eiwit en calorieën zich eveneens wijzigde. Tabel IV-3 geeft aan welke veranderingen er optraden.

Tabel IV-3. De calorie-stikstofverhouding in de 3 perioden

	gemiddelde ($\bar{x} \pm \text{SEM}$)		spreiding	
	kcal.	kjoules	kcal.	kjoules
40 gram eiwit	281 \pm 10	(1176 \pm 42)	209 - 337	(874 - 1410)
60 gram eiwit	180 \pm 6	(753 \pm 25)	135 - 217	(565 - 808)
80 gram eiwit	130 \pm 4	(544 \pm 17)	97 - 151	(406 - 632)

Het dieet met 40 gram eiwit is betrekkelijk calorierijk; er zijn per gram stikstof voldoende calorieën aanwezig om een goede benutting van de stikstof mogelijk te maken. Ook het 60 gram eiwit dieet is redelijk uitgebalanceerd. Bij 80 gram eiwit zijn er betrekkelijk weinig calorieën voor iedere gram stikstof. Mogelijk zou daar de benutting van de stikstof laag kunnen uitvallen door een tekort aan energie.

Bevindingen bij de patienten

Tijdens het balansonderzoek hebben er zich geen grote problemen voorgedaan. Het dieet werd over het algemeen goed verdragen. Tijdens de eerste 10 dagen van het onderzoek hebben enkele patienten geklaagd dat zij maar net voldoende te eten kregen. Ook viel de hoeveelheid eiwitten, die zij in de vorm van vlees of melk mochten gebruiken, soms tegen. De toevoeging van vertakte-keten aminozuren aan het dieet, in de vorm van een aminozuurpoeder, werd niet erg gewaardeerd. De smaak van dit mengsel is onaangenaam en bitter. Enkele

patienten verdroegen het moedig en namen het in vermengd met appelmoes of vla. Voor anderen was dit niet acceptabel en moest het mengsel in capsules verpakt worden. Bijwerkingen van het aminozuurmengsel, anders dan een vieze smaak, zijn niet waargenomen.

Een aantal parameters is vervolgd teneinde eventuele veranderingen na te gaan in de lichaamssamenstelling van de patienten tijdens het balansonderzoek.

In tabel IV-4 zijn ze weergegeven.

Tabel IV-4 Veranderingen tijdens het balansonderzoek

	40 gram eiwit	60 gram eiwit	80 gram eiwit
gewicht (kg.)	69,3 ± 5,0	69,2 ± 4,9 *	69,8 ± 4,9
creatinine (mmol/24 u.)	9,9 ± 0,9	10,0 ± 0,9	10,5 ± 1,0
plasma albumine (g./l.)	28,7 ± 0,8	* 27,3 ± 0,8	27,8 ± 1,2
ret.bind. eiwit (mg./l.)	0,12 ± 0,02 *	0,14 ± 0,3	0,15 ± 0,3

NB 1.: uitslagen als $\bar{X} \pm \text{SEM}$; NB 2.: * $p < 0,05$.

Het gemiddelde lichaamsgewicht blijft aanvankelijk gelijk, doch later valt er een significante, zij het dan ook geringe, stijging waar te nemen. Wanneer we dit gedetailleerder per 5-daagse periode zouden bekijken (tabel IX-25), dan lijkt het erop dat er initieel een daling van het gewicht plaatsvindt en dat dat verlies later weer ingehaald wordt. Hoewel de gemiddelde uitscheiding van creatinine per 24 uur een stijging in de loop van het balansonderzoek lijkt te vertonen, worden hier de normen van significantie niet gehaald. Het plasma albumine is in lage concentraties aanwezig. Aanvankelijk daalt het significant. Ook hier lijkt het erop dat het aanvankelijk ontstane verlies later weer ingelopen wordt. Ook retinol bindend eiwit wordt in zeer lage concentraties gevonden. Het stijgt significant op een eiwitdosering van 60 gram per dag, maar blijft stabiel op dat niveau wanneer er nog meer eiwit in het dieet gegeven wordt.

Klinische bevindingen en graad van encephalopathie

Bij het begin van het balansonderzoek toonde geen van de patienten klinisch waarneembare tekenen van portosystemische encephalopathie. Tijdens het onderzoek, waarbij de patienten dagelijks werden geobserveerd, is nooit waargenomen dat er encephalopathie ontstond. Hierbij werd beoordeeld of het

bewustzijn van de patient helder was en of hij georiënteerd was in plaats, tijd en persoon. Ook werd gelet op de eventuele aanwezigheid van een flapping tremor van de handen of een vertraagde en ongearticuleerde spraak.

Alle patienten hebben het onderzoek zonder problemen kunnen volbrengen. Klinisch zijn er dus geen argumenten dat een sterk eiwitbeperkt dieet tot encephalopathie leidt. Bovendien blijken deze patienten een 80 gram eiwitdieet onder deze omstandigheden goed te kunnen verdragen en ontstonden er geen tekenen van encephalopathie. De patienten voelden zich aan het eind van het onderzoek fitter en waren minder snel vermoeid.

In tabel IV-5 zijn de bevindingen samengevoegd van de testen die zijn verricht om het eventuele ontstaan van encephalopathie zo goed mogelijk vast te stellen, c.q. om het beloop ervan te vervolgen.

Tabel IV-5. Testen op encephalopathie

	40 gram eiwit		60 gram eiwit	80 gram eiwit
trailtest (% normaal)	131 ± 12	*	109 ± 9	119 ± 13
E.E.G. (punten)	1,19 ± 0,09	*	1,63 ± 0,16	1,44 ± 0,14
ammoniak (umol/l.)	59,3 ± 8,0		67,3 ± 10,0	65,3 ± 6,7
VKAZ/AAZ (molaire ratio)	1,09 ± 0,10		1,11 ± 0,12	* 0,97 ± 0,14

NB. * = $p < 0,05$.

De cijferverbindingstesten aan het begin van het balansonderzoek tonen aan dat er een lichte afwijking van de bij gezonden vastgestelde normen bestond. Dit zou kunnen duiden op de aanwezigheid van een lichte mate van klinisch niet herkenbare encephalopathie. Tijdens gebruik van 60 gram eiwit worden de cijferverbindingstesten sneller uitgevoerd dan tijdens de eerste periode met 40 gram eiwit per dag. Dit zou kunnen betekenen dat de toestand van de patienten iets verbeterd is en dat er dus inderdaad bij het positief worden van de stikstofbalans een verbetering van de cerebrale functie optreedt. Anderzijds zou het kunnen zijn dat deze verbetering is terug te voeren op een leereffect, hoezeer ook getracht is dit te voorkomen. Op 80 gram eiwit per dag veranderen de cijferverbindingstesten niet duidelijk meer. Deze hoeveelheid eiwit lijkt dus goed te worden verdragen.

Het E.E.G. is volgens de door ons toegepaste arbitraire schaal licht gestoord aan het begin van het onderzoek. Ook dit zou kunnen duiden op een lichte

graad van klinisch niet herkenbare encephalopathie. Op 60 gram eiwit lijkt er een achteruitgang op te treden en wordt er een significant hogere score gevonden. Dit is dus in tegenspraak met de bevindingen bij de trailtesten, die juist verbeteren en met de klinische beoordeling die geen verandering laat zien. Het E.E.G. wordt niet slechter bij nog verder verhogen van het eiwitaanbod met de voeding tot 80 gram per dag. Dit maakt het onwaarschijnlijk dat er door deze test op 60 gram per dag werkelijk een probleem gesignaleerd wordt. Ware dat wel het geval, dan zou het E.E.G. op 80 gram eiwit per dag nog slechter moeten zijn.

Het ammoniak was bij het begin van het onderzoek verhoogd en steeg tijdens het onderzoek niet significant. Dit laatste criterium als norm aanhoudend, kan men dus geen voorkeur voor één van de dieten uitspreken.

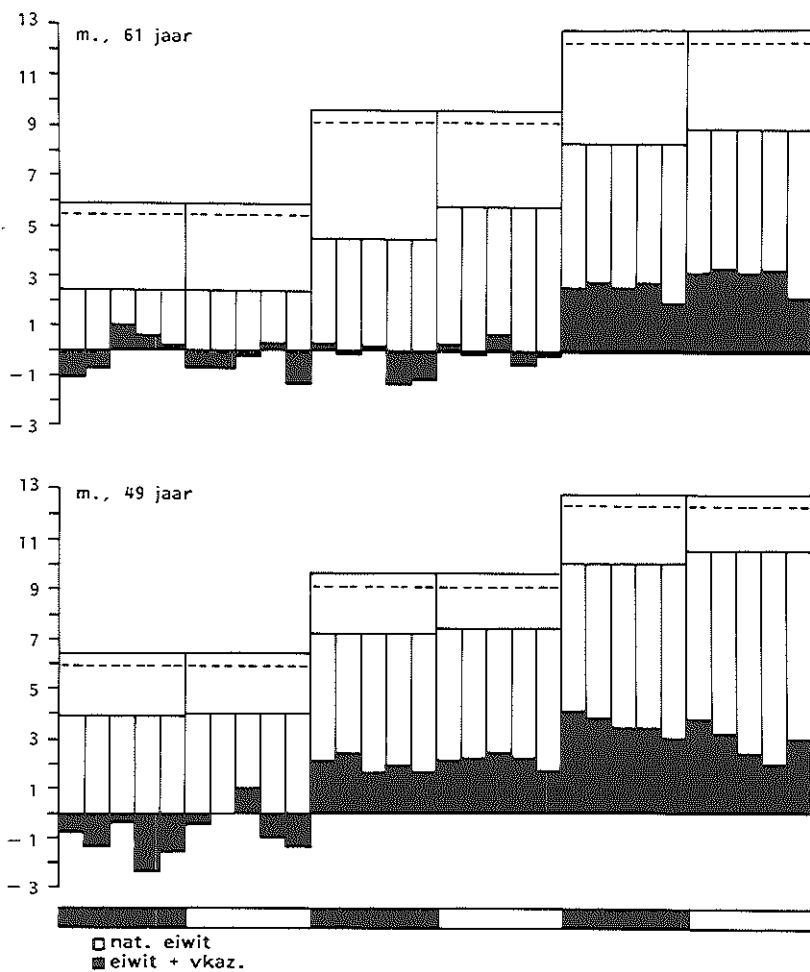
De molaire vertakte-keten aminozuren/aromatische aminozuren verhouding van het plasma was aan het begin van het onderzoek sterk gestoord, zoals beschreven bij patienten met levercirrhose. Bij verhogen van de hoeveelheid eiwit in het dieet tot 60 gram verandert deze ratio niet; verder verhogen tot 80 gram per dag geeft geen verandering in de ratio in vergelijking tot die op 40 gram per dag, maar wel een daling ten opzichte van die op 60 gram per dag. Deze daling lijkt voornamelijk het gevolg te zijn van het toenemen van de concentratie van de aromatische aminozuren, tyrosine en tryptofaan. Volgens de aminozuurtheorie van het ontstaan van encephalopathie zou dit een ongunstige ontwikkeling zijn.

De stikstofbalansen

De berekening van de individuele stikstofbalansen van de 8 patienten is opgenomen in de tabellen in de appendix. Een grafische uitbeelding van dezelfde gegevens staat in de figuren IV-A t/m IV-D.

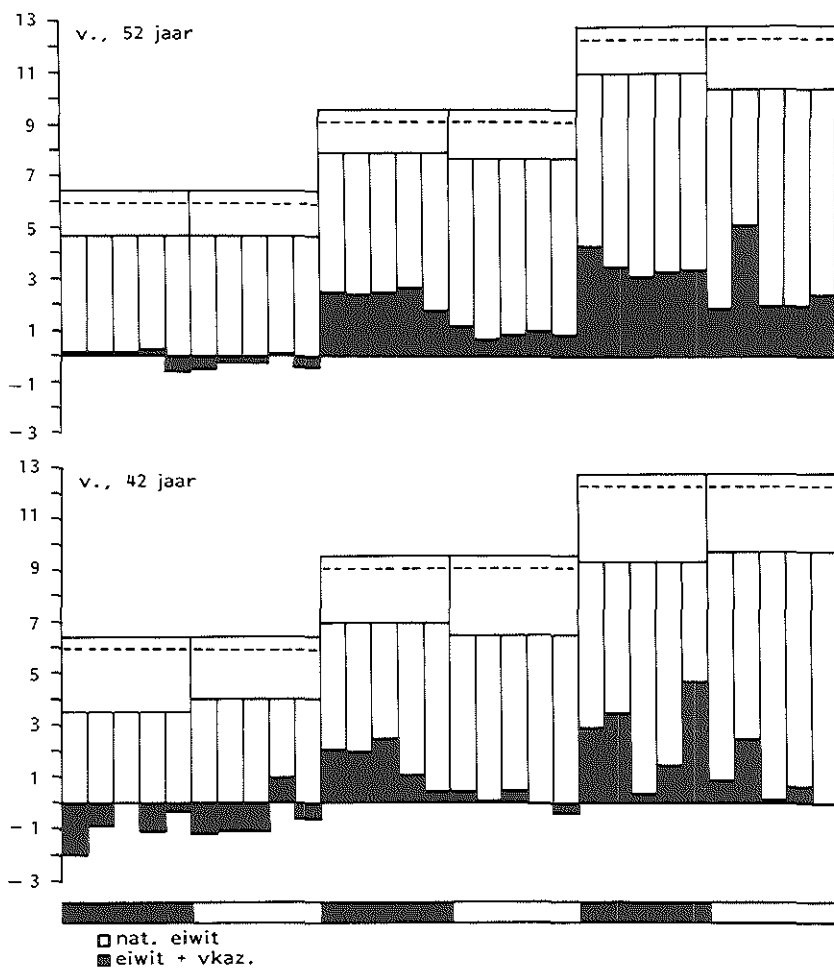
Het verlies van stikstof in de ontlasting is voor de groep als geheel $2,16 \pm 0,11$ gram/dag. Dit is net iets meer dan normaal (tot 2 gram/dag). Deze uitslagen worden evenwel sterk beïnvloed door de eerste patient (m., 61), die door zijn darmziekte een verhoogd stikstofverlies met de ontlasting heeft. Voor de andere 7 patienten apart genomen, wordt een gemiddeld stikstofverlies gevonden van $1,93 \pm 0,07$ gram per dag. Dit is net nog niet verhoogd.

De stikstofbalans van de 8ste patient (m., 40) over de 6de dieetperiode wordt op onbegrijpelijke wijze ook negatief. Deze gegevens werden derhalve terzijde gelegd. Waarschijnlijk heeft de patient in die periode extra eiwit (vlees)



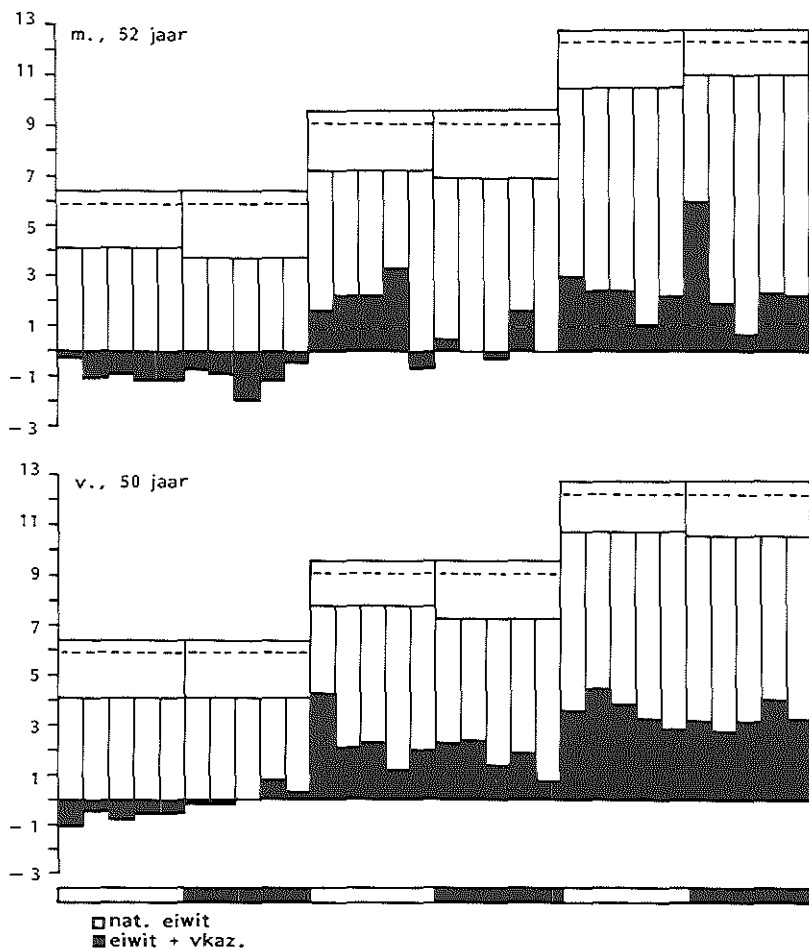
Figuur IV-A

De dagelijkse stikstofbalans (zwarte kolommen) in g.N./24 uur
 bij 2 patienten gedurende 30 dagen
 op 3 doseringen eiwit (corresponderend met 6,4, 9,6 en 12,8 g.N./dag).



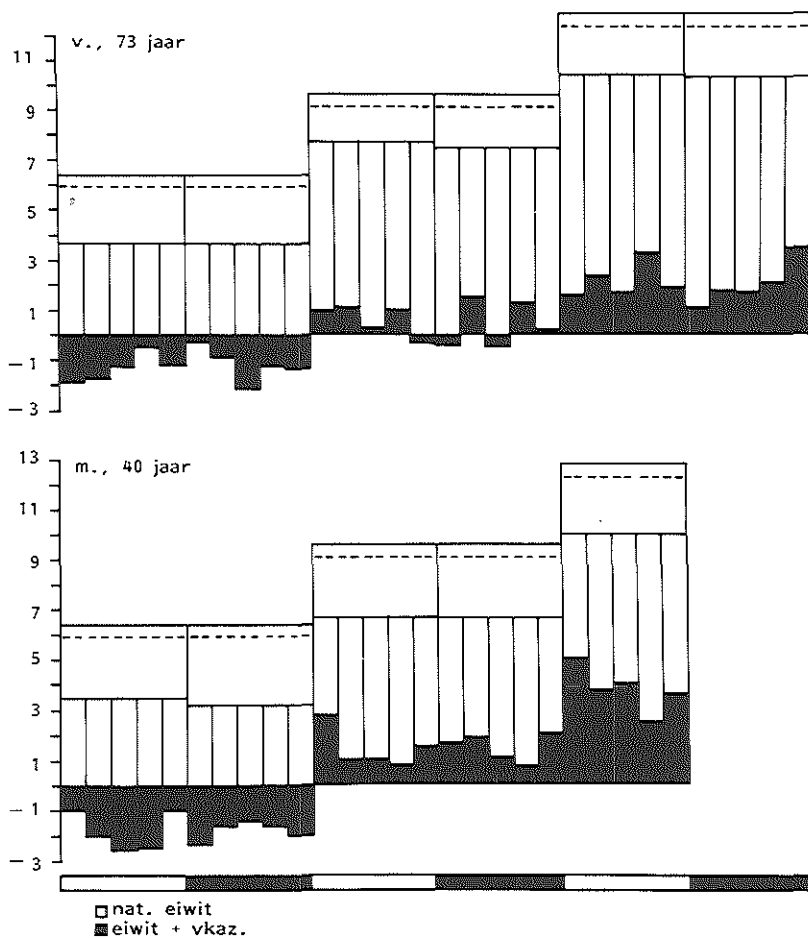
Figuur IV-B

De dagelijkse stikstofbalans (zwarte kolommen) in g.N./24 uur
 bij 2 patienten gedurende 30 dagen
 op 3 doseringen eiwit (corresponderend met 6,4, 9,6 en 12,8 g.N./dag).



Figuur IV-C

De dagelijkse stikstofbalans (zwarte kolommen) in g.N./24 uur bij 2 patienten gedurende 30 dagen op 3 doseringen eiwit (corresponderend met 6,4, 9,6 en 12,8 g.N./dag).



Figuur IV-D

De dagelijkse stikstofbalans (zwarte kolommen) in g.N./24 uur
 bij 2 patienten gedurende 30 dagen
 op 3 doseringen eiwit (corresponderend met 6,4, 9,6 en 12,8 g.N./dag).

gebruikt buiten zijn balansdieet om. De balans valt dan negatief uit door onderschatting van de stikstofopname met het voedsel. De in die periode extra hoge uitscheiding van 3-methylhistidine wijst ook in de richting van dergelijke dieetfouten.

De gemiddelde waarde van de stikstofbalans per 5-daagse periode werd voor iedere patient berekend. De gegevens zijn opgenomen in tabel IV-6.

Uit deze gegevens zijn vervolgens voor de gehele groep de gemiddelde stikstofbalansen berekend per 10-daagse periode.

Op een dieet met 40 gram eiwit per dag blijkt deze gemiddelde balans negatief te zijn, $-0,78 \pm 0,15$ gram stikstof per dag. Op een dieet met 60 gram eiwit per dag wordt de gemiddelde balans positief, $+1,23 \pm 0,22$ gram stikstof per dag. Dit verbetert verder op een dieet met 80 gram eiwit per dag tot een gemiddelde balans van $+2,77 \pm 0,20$ gram stikstof per dag.

Balans IV-6. De gemiddelde stikstofbalans per patient per 5-daagse periode.

	40 gram eiwit		60 gram eiwit		80 gram eiwit	
	nat.	VKAZ	nat.	VKAZ	nat.	VKAZ
m., 61	-0,01	-0,49	-0,40	+0,49	+2,56	+3,05
m., 49	-1,32	-0,34	+1,95	+2,13	+3,48	+2,81
v., 52	+0,05	-0,30	+2,40	+0,95	+3,52	+2,67
v., 42	-0,86	-0,65	+1,64	+0,15	+2,59	+0,87
m., 52	-1,07	-0,95	+0,41	+1,70	+2,34	+2,20
v., 50	+0,16	-0,17	+1,78	+2,38	+3,32	+3,63
v., 73	-1,16	-1,34	+0,43	+0,62	+1,90	+2,87
m., 40	-1,78	-1,78	+1,20	+1,86	--	+3,78

NB. Uitslagen in gram stikstof/24 uur.

De cumulatieve stikstofbalans over 30 dagen blijkt voor alle patienten positief te zijn en varieert van 16 tot 52 gram stikstof met een gemiddelde van 32,4 gram stikstof. Er blijkt geen verband te kunnen worden gevonden tussen de cumulatieve stikstofbalans en de gewichtsstijging gedurende 30 dagen. Mogelijk hebben zich veranderingen in de lichaamssamenstelling voorgedaan, niet alleen door toename van de lean body mass, maar ook door verdwijnen van latent oedeem. Een verband tussen de cumulatieve stikstofbalans en de toename in de creatinine excretie per 24 uur tussen de

eerste en de laatste verzamelperiode blijkt ook niet gevonden te kunnen worden.

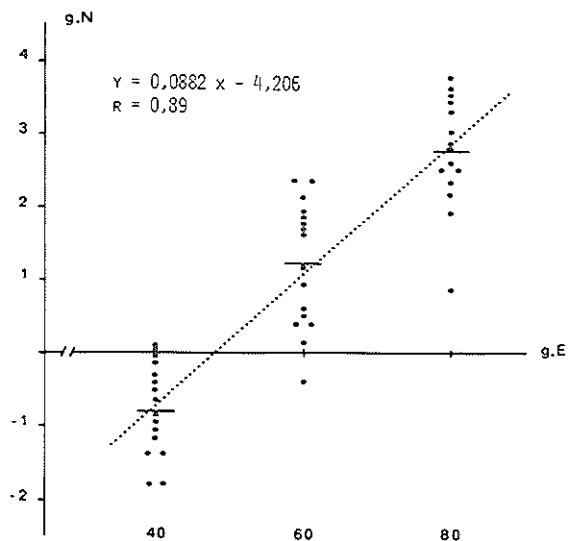


FIG.IV-1. GEMIDDELDE STIKSTOFBALANS (G.N./DAG) OP 40, 60 EN 80 G.E./DAG;
BEREKENING MINIMALE STIKSTOFBEHOEFTE.

De minimale eiwitbehoefte

De minimale eiwitbehoefte, berekend met lineaire regressie analyse uit de gemiddelde stikstofbalansgegevens op de 3 verschillende doseringen eiwit in het dieet is voor iedere patient apart vermeld in tabel IV-7.

Tabel IV-7. De minimale eiwitbehoefte

	gram eiwit/dag	gram eiwit/kg./dag
m., 61	46,5	1,05
m., 49	45,1	0,53
v., 52	41,0	0,78
v., 42	51,7	0,92
m., 52	51,9	0,63
v., 50	43,0	0,55
v., 73	54,4	1,03
m., 40	52,4	0,52

De gemiddelde waarde voor de minimale eiwitbehoefte voor deze groep valt hieruit te berekenen en bedraagt $48,3 \pm 1,8$ gram eiwit per dag ($\bar{x} \pm \text{SEM}$). Uitgedrukt per kilogram lichaamsgewicht komt dat neer op $0,75 \pm 0,18$ gram eiwit per kg. per dag. De "veilige" eiwitopname - dat wil zeggen die eiwitopname waar 95% van de individuen van de bestudeerde groep mee in balans zijn - bedraagt voor deze groep 58,2 gram eiwit per dag ($\bar{x} + 2 \text{ sd}$) of 1,20 gram eiwit per kg. per dag.

De "net protein utilisation"

Ter beoordeling van de efficiëntie van het gebruik van eiwit is de "net protein utilisation" uitgerekend op een eiwitdosering van 60 gram per dag, een hoeveelheid die dicht bij het punt van stikstofevenwicht ligt.

Tabel IV-8. Net protein utilisation (in %)

	60 gram eiwit
m., 61	$5,7 \pm 8,0$
m., 49	$26,4 \pm 3,2$
v., 52	$22,9 \pm 8,4$
v., 42	$14,6 \pm 10,4$
m., 52	$16,1 \pm 13,9$
v., 50	$27,0 \pm 9,7$
v., 73	$10,5 \pm 8,1$
m., 40	$21,3 \pm 7,7$

Voor de gehele groep is de utilisatie van het eiwit laag (138). De eerste patient (m., 61) vormt binnen de groep een uitzondering en heeft een nog lagere utilisatie. Waarschijnlijk wordt dit veroorzaakt door afbraak van aminozuren door bacteriele enzymen in de darm. Bovendien zou een energietekort tengevolge van de steatorrhoe hiertoe kunnen bijdragen; dit zou de oorzaak kunnen zijn dat de aminozuren voor gluconeogenese gebruikt zouden worden.

Het aminozuurpatroon

De waarden voor de aminozuurconcentraties in veneus bloed 's ochtends in

nuchtere toestand aan het eind van iedere 5-daagse verzamelperiode zijn vermeld in de tabellen (IX-13 en IX-14) in de appendix. De gemiddelde concentraties van de plasma aminozuren zijn opgenomen in tabel IV-9 (2 aminozuurbepalingen per patient per dosering eiwit).

Tabel IV-9. Plasma aminozuurconcentraties in micromol/l.

	normale waarde	40 gram eiwit	60 gram eiwit	80 gram eiwit
leucine	(140 ± 5)	83 ± 5	86 ± 8	77 ± 6
isoleucine	(74 ± 4)	52 ± 3	56 ± 4	52 ± 4
valine	(238 ± 9)	135 ± 10	149 ± 13	140 ± 14
phenylalanine	(59 ± 4)	79 ± 4	78 ± 5	82 ± 4
tyrosine	(89 ± 6)	131 ± 12	142 ± 13	155 ± 13
tryptofaan	(74 ± 7)	43 ± 3 *	48 ± 3	53 ± 4

*p < 0,05.

Het aminozuurpatroon komt overeen met dat wat in de literatuur wordt beschreven (85,110). De aromatische aminozuren phenylalanine en tyrosine zijn aanwezig in een hogere dan normale concentratie, terwijl de vertakte keten aminozuren juist in verlaagde concentratie aangetroffen worden. Tryptofaan evenwel blijkt in lager dan normale concentraties gevonden te worden. Meer eiwit in het dieet geeft geen significante veranderingen te zien in de concentraties van leucine, isoleucine en valine. Ook de phenylalanine en tyrosine concentraties veranderen niet. Wel blijkt er een stijging op te treden in de concentratie van tryptofaan.

3-Methylhistidine

3-Methylhistidine is gemeten in de urine van de derde, vierde en vijfde dag van iedere verzamelperiode. De gemeten waarden zijn verzameld in tabel IX-15. Alvorens deze getallen te gebruiken zijn ze eerst gecorrigeerd voor berekend exogeen 3-methylhistidine dat uit vlees in het dieet afkomstig was (78). De uitslagen per individu variëren nogal. Aangezien deze variatie deels met het verschil in spiermassa tussen de individuen samenhangt, zijn deze getallen gedeeld door de creatinine uitscheiding die op diezelfde verzameldag gemeten was. Ook deze waarnemingen zijn opgenomen in een tabel (IX-16). De gemiddelde

3-methylhistidine uitscheiding voor de 8 patienten per dosering eiwit, alsook de gemiddelde 3-methylhistidine/creatinine verhouding over diezelfde perioden, zijn opgenomen in tabel IV-10.

Tabel IV-10. De 3-methylhistidine uitscheiding

	normale waarden	40 gram eiwit		60 gram eiwit	80 gram eiwit
3-methylhistidine	249 ± 22	181 ± 17	*	158 ± 15	170 ± 15
3-mehis./creatinine	24,8 ± 12,6	18,4 ± 1,1	*	16,9 ± 1,2	17,0 ± 1,0

NB. * = $p < 0,05$.

Zowel de 3-methylhistidine uitscheiding zelf, alsook de 3-methylhistidine creatinine ratio dalen significant bij het gaan van 40 naar 60 gram eiwit in het dieet. Bij verder verhogen van de hoeveelheid eiwit vonden geen significante veranderingen meer plaats. De uitscheiding is in alle periodes lager dan bij controle personen gevonden wordt.

De behandeling na het balansonderzoek.

Een van de doelstellingen van het balansonderzoek was te bestuderen of de patient niet een minder eiwitbeperkt dieet zou kunnen krijgen. Deze doelstelling is bij alle patienten gerealiseerd. Zij kregen bij ontslag adviezen voor een dieet van 60 gram eiwit per dag. De gedachte hierbij was dat dit voldoende zou zijn om eiwitkatabolie te voorkomen, terwijl anderzijds het gevaar voor eiwitoverbelasting bij eventuele dieetfouten niet groot was. Gebleken was immers dat ook 80 gram eiwit per dag verdragen kon worden zonder problemen. Het bleek dat dit dieet met 60 gram eiwit per dag thuis door alle patienten goed verdragen werd. Zij voelden zich er fitter op dan zij tevoren waren met een dieet van 40 gram eiwit per dag. Portosystemische encephalopathie als gevolg van het geadviseerde dieet heeft zich niet voorgedaan. Bij de patienten die later wel weer perioden met encephalopathie doormaakten, bleek dit te kunnen worden verklaard door blijvend alcoholgebruik, ernstige obstipatie, gebruik van diuretica of veronachtzaming van alle dieetadviezen.

TWEDE SERIE BALANSEN

In deze serie van 4 balansen is getracht het effect op de stikstofbalans na te gaan van het verder verdelen van het voedsel over meer maaltijden per dag. Telkens werd bij een eiwitopname van 60 gram per dag onderzocht hoe de stikstofbalans was tijdens het gebruik van 3 of van 4 maaltijden per dag. Ook werd de balans bepaald op een dieet van 40 gram eiwit per dag. Hierbij was het voedsel over 3 maaltijden verdeeld, evenals bij een balans op een dieet met 80 gram eiwit die bij nog 2 patienten werd uitgevoerd.

De patienten

De 4 patienten die aan het onderzoek hebben deelgenomen, hadden allen een histologisch bevestigde levercirrhose.

Patient 1, een man van 53 jaar, is dezelfde die enkele jaren tevoren ook een balansonderzoek had ondergaan, en die in de eerste serie verschijnt als de 2de patient, een man van 49 jaar. Na dat balansonderzoek kreeg hij een dieet met 60 gram eiwit per dag voorgeschreven. Hij was bekend met een alcoholische levercirrhose en een mesocavale shunt. In de tussenliggende jaren had hij nog enkele malen een periode van exacerbatie van encephalopathie doorgemaakt, veroorzaakt door dieetfouten en mede in de hand gewerkt door blijvend fors alcoholgebruik. Hij werd onderzocht na een langdurige ziekenhuisverpleging vanwege een recidief van een ulcus ventriculi, gecompliceerd door haematemesis. Tijdens het balansonderzoek gebruikte hij als medicatie: Lactulose 3 maal 15 ml., Cimetidine 2 maal 400 mg. en Furosemide 1 maal 40 mg.

Patient 2, een man van 53 jaar, heeft jarenlang regelmatig veel alcohol gebruikt. Hij was redelijk gezond tot 1 jaar voor het balansonderzoek; toen ontstond er icterus en ascites. Er trad een bloeding op uit oesophagusvarices. Patient had in die tijd concentratiestoornissen, hij sliep slecht en was soms verward. Omdat het niet gelukte met scleroseren van de varices de bloeding te stoppen, werd, ondanks de slechte algemene toestand, een mesocavale shunt aangelegd. Een leverbiopt bevestigde de diagnose alcoholische levercirrhose. Het postoperatieve herstel was traag; er bestond lange tijd lichte encephalopathie en flinke icterus. Patient dronk niet meer. In aansluiting aan een klinische behandeling van encephalopathie werd balansonderzoek verricht. Ten tijde van dit onderzoek gebruikte patient 3 maal 15 ml. Lactulose.

Patient 3, een man van 55 jaar, is dezelfde die al eerder voor balansonderzoek opgenomen was geweest en die in de eerste serie beschreven is als een patient van 52 jaar. Hij had een levercirrhose op basis van chronische actieve hepatitis. Na dat balansonderzoek kreeg hij het advies 60 gram eiwit per dag te gebruiken. Het beloop in de tussenliggende jaren werd gekenmerkt door een aantal periodes waarin manifeste encephalopathie optrad. De oorzaak hiervan was niet steeds duidelijk; chronische en moeilijk te behandelen obstipatie speelde hierin veelal mede een rol. Afgezien hiervan was de klinische toestand vrijwel stationair. Tijdens het balansonderzoek gebruikte hij Lactulose 3 maal 30 ml., Neomycine 2 maal 1 g. en Magnesiumoxide maagpoeders 3 maal 1 c.th.

Patient 4, een man van 59 jaar, werd op 57-jarige leeftijd in het ziekenhuis opgenomen vanwege vermagering, bovenbuikspijn, ascites en icterus. Hij dronk al geruime tijd alcohol, de laatste 4 jaar echter zeer veel; patient verwaarloosde zich en at met name erg onregelmatig. Er bleek een alcoholische hepatitis met cirrhose te bestaan. In het ziekenhuis herstelde patient geleidelijk. Na ontslag uit de kliniek begon hij al snel weer te drinken. Twee jaar later werd hij wederom opgenomen met ascites, icterus en bovenbuikspijn. Na langdurige ziekenhuisverpleging tijdens welke patient flink opknapte, werd balansonderzoek verricht. Tijdens dit onderzoek bestond de medicatie uit: Furosemide 40 mg., Amiloride 10 mg., Neomycine 3 maal 500 mg. en Lactulose 60 ml. per dag.

De voedingstoestand van de patienten

De anthropometrische gegevens van de onderzochte patienten zijn verzameld in tabel IV-11.

Tabel IV-11. Gegevens betreffende de lichaamssamenstelling

	lengte	gewicht	G/L	Q	C/L
m., 53	1,79	90,5	123	28,3	96
m., 53	1,82	94,9	125	28,7	99
m., 55	1,76	83,6	118	27,0	105
m., 59	1,69	70,5	107	24,7	95

NB. L = lengte (m.); g = gewicht (kg.); G/L = gewicht/lengte index;
Q = Quëtelet index; C/L = creatinine/lengte index.

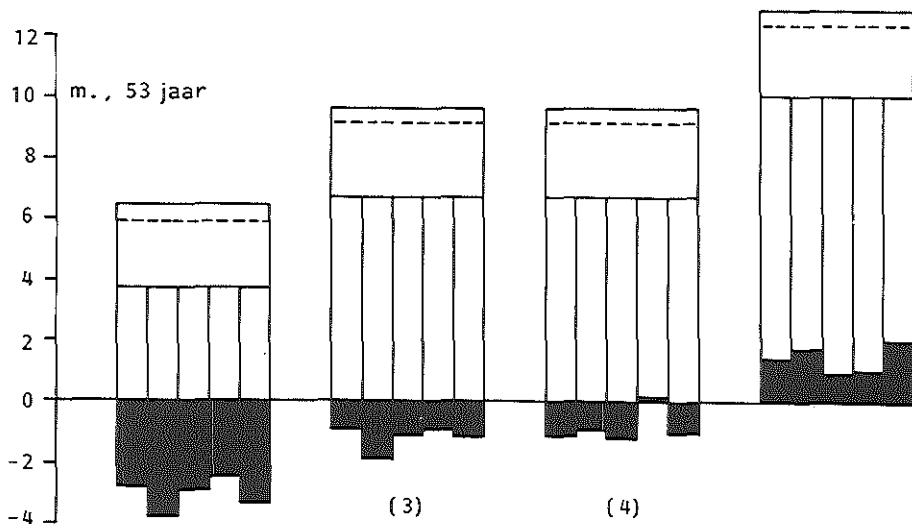
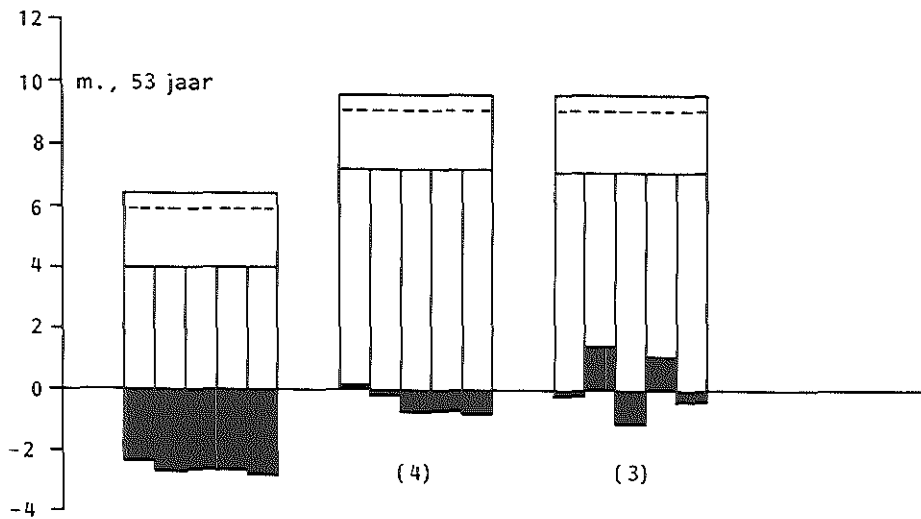
Gezien de Quételetindex en de gewicht/lengte index blijken de eerste 3 patienten boven hun ideale gewicht te zijn; toch is hun creatinine/lengte index niet verhoogd. De vierde patient is wat alle criteria betreft normaal.

De veranderingen bij de patienten tijdens de balansperiode

Tabel IV-12. Veranderingen tijdens de verzamelperiode

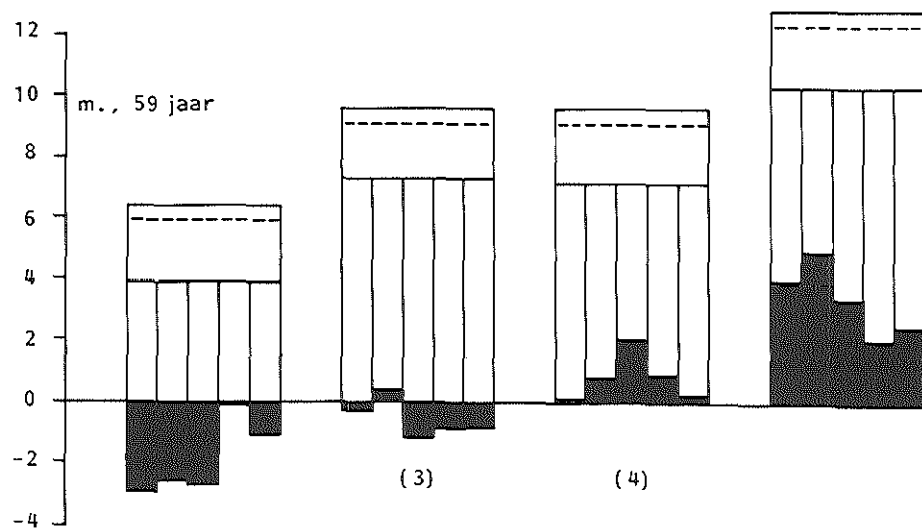
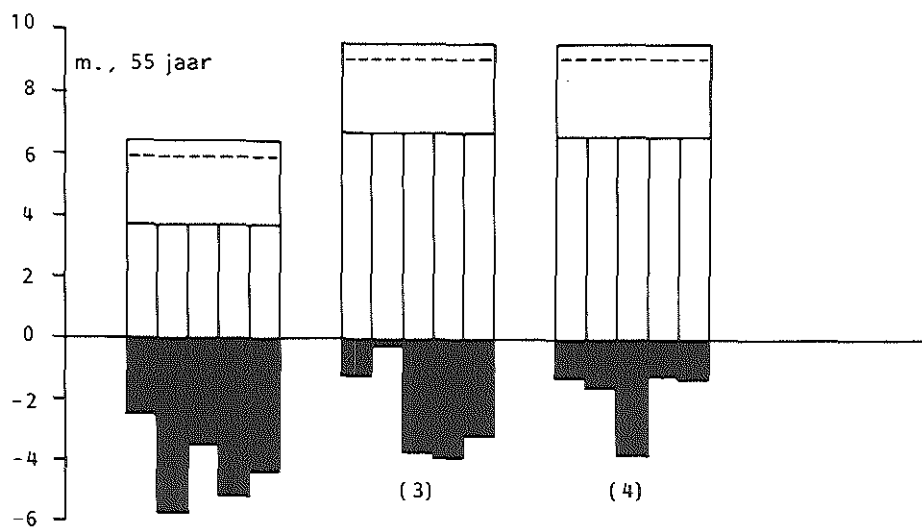
		I	II	III	IV
lich. gewicht	m., 53	90,5	90,3	91,7	--
(kg.)	m., 53	94,4	94,3	93,9	93,6
	m., 55	83,6	82,4	81,8	--
	m., 59	70,5	70,1	69,9	69,7
albumine	m., 53	33	31	31	--
(g./l.)	m., 53	30	28	31	30
	m., 55	36	34	33	--
	m., 59	38	40	39	38
prealbumine	m., 53	0,09	0,10	0,09	--
(mg./l.)	m., 53	0,05	0,06	0,07	0,08
	m., 55	0,07	0,08	0,08	--
	m., 59	0,09	0,09	0,11	0,12
ammoniak	m., 53	54	57	56	--
(umol/l.)	m., 53	73	70	59	78
	m., 55	96	123	90	--
	m., 59	48	68	47	34

Het blijkt dat er in geen van deze parameters wezenlijke veranderingen optreden. Het prealbuminegehalte wijkt sterk af van de normale waarde, $\pm 0,30$ mg./l.; het toont geen enkele neiging tot stijgen.



Figuur IV-E

De dagelijkse stikstofbalans (zwarte kolommen) in g.N./24 uur bij 2 patienten gedurende 3 of 4 perioden van 5 dagen op 2 of 3 doseringen eiwit (corresponderend met 6,4, 9,6 en 12,8 g.N./dag).
 (3) = 3 maaltijden/dag (4) = 4 maaltijden/dag



Figuur IV-F

De dagelijkse stikstofbalans (zwarte kolommen) in g.N./24 uur bij 2 patienten gedurende 3 of 4 perioden van 5 dagen op 2 of 3 doseringen eiwit (corresponderend met 6,4, 9,6 en 12,8 g.N./dag).
 (3) = 3 maaltijden/dag (4) = 4 maaltijden/dag

De gekozen dieten

De door de patienten gekozen dieten bleken te bevatten:

Tabel IV-13. De dieten

	berekende behoefte		gekozen dieten		BEE _{x1,2}	
	BEE x 1,2				%	kcal/kg.
	kcal.	(kjoules)	kcal.	(kjoules)		
m., 53	2218	(9280)	1999	(8364)	90	22
m., 53	2309	(9661)	2370	(9916)	103	25
m., 55	2070	(8661)	2115	(8849)	102	25
m., 59	1780	(7448)	1874	(7841)	105	27

De gekozen dieten wijken in caloriegehalte vrijwel niet af van wat als ideaal wordt gezien.

De stikstofbalansen

De individuele resultaten van het balansonderzoek zijn opgenomen in de tabellen IX-9 tot en met IX-12. De waarden voor de gemiddelde stikstofbalans per dag berekend over 5-daagse periode staan vermeld in tabel IV-14.

Tabel IV-14. Gemiddelde stikstofbalans per periode in gram N/24 uur

	40 gram eiwit	60 gram eiwit		80 gram eiwit
	(3)	(3)	(4)	(3)
m., 53	-2,65	-0,36	+0,18	---
m., 53	-3,06	-1,25	-0,87	+1,38
m., 55	-4,28	-2,53	-1,81	---
m., 59	-1,80	-0,08	+0,84	+3,39

NB. Aantal maaltijden tussen haakjes vermeld.

Op een dieet met 40 gram eiwit per dag zijn alle patienten in een negatieve stikstofbalans. Ook op een dieet met 60 gram eiwit per dag is deze groep veelal nog niet in een positieve stikstofbalans.

De minimale stikstofbehoefte

Uit de bovenstaande gegevens kan met lineaire regressie analyse de minimale stikstofbehoefte voor 2 patienten berekend worden; deze bedraagt voor patient 2, een man van 53 jaar, 69,5 gram eiwit per dag. Voor patient 4, een man van 59 jaar, wordt een minimale stikstofbehoefte gevonden van 56,7 gram. Bij de andere 2 patienten is het aantal meetpunten onvoldoende voor de berekening van de minimale stikstofbehoefte.

Het effect van de maaltijdfrequentie op de stikstofbalans

Uit tabel IV-14 valt af te lezen dat de stikstofbalans steeds beter - dat wil zeggen minder negatief - uitvalt wanneer het per dag genuttigde voedsel over 4 in plaats van over 3 maaltijden per dag verdeeld wordt. Het verschil is respectievelijk 0,54, 0,38, 0,72 en 1,33 gram met een gemiddelde van $0,74 \pm 0,21$ gram stikstof per 24 uur. Op de dagbalansen berekend ($n=20$) zijn deze verschillen statistisch significant ($p < 0.05$).

De verandering van de stikstofbehoefte in de tijd

Bij een 2-tal patienten is het balansonderzoek herhaald. Het interval tussen het eerste en het tweede onderzoek bedroeg bij de eerste patient 49 maanden, bij de tweede patient was dit 39 maanden.

Een vergelijking van de bevindingen bij die 2 metingen staat in tabel IV-15. In deze tabel worden balansen vergeleken, verkregen tijdens gebruik van 3 maaltijden per dag.

Tabel IV-15. Herhaling van het balansonderzoek

		40 gram eiwit	60 gram eiwit	80 gram eiwit
patient A	m., 49	-0,34	+2,13	+2,81
	m., 53	-2,65	-0,36	--
patient B	m., 52	-0,95	+1,70	+2,20
	m., 55	-4,28	-2,53	--

NB. Uitslagen in g.N./24 uur.

Het valt op dat tijdens het tweede onderzoek de balansen slechter uitvallen dan bij de eerste meting. Bij herhaling van het onderzoek werd een dieet met

80 gram eiwit per dag voor beide patienten op klinische gronden onacceptabel hoog geacht. Deze dosering eiwit werd daarom niet opnieuw onderzocht. Dit maakt dat een betrouwbare schatting van de minimale eiwitbehoefte ten tijde van het herhalen van het onderzoek niet mogelijk is. Wel valt te zeggen dat deze behoefte zeker hoger zou uitkomen dan tijdens het eerste onderzoek. Het ziet er dus naar uit dat de eiwitbehoefte bij deze patienten in de loop van de tijd gestegen is.

Conclusie.

De conclusie van het balansonderzoek is dat een dieet met 40 gram eiwit per dag voor een patient met levercirrhose onvoldoende is om in stikstofbalans te blijven. De minimale eiwitbehoefte is gemiddeld 48 gram eiwit per dag; daaruit volgt dat 'veilige' eiwitopname 58 gram per dag is. De stikstofbalans blijkt te verbeteren als de patient -in plaats van in drie maaltijden- de voeding meer over de dag verspreid gebruikt. Er zijn geen argumenten gevonden, dat portosystemische encephalopathie ontstaat of toeneemt wanneer de patient in een negatieve stikstofbalans -dus katabool- is. Een dieet met 80 gram eiwit per dag bleek tijdens het onderzoek goed verdragen te worden door een groep patienten waarvan men tevoren aannam, dat zij slechts 40 gram eiwit per dag konden verdragen.

HOOFDSTUK V

DE EFFECTEN VAN EIWIT AANGEVULD MET VERTAKTE-KETEN-AMINOZUREN

Tijdens de eerste serie balansen, zoals beschreven in hoofdstuk IV, is iedere 10-daagse balansperiode verdeeld in twee 5-daagse perioden gedurende welke of natuurlijk eiwit, of eiwit verrijkt met vertakte keten aminozuren is gegeven. De effecten van de verschillende hoeveelheden eiwit op de stikstofbalans, op de minimale eiwitbehoefte, op de aminozuurspiegels in het plasma, op de uitscheiding van 3-methylhistidine in de urine en bovendien op de klinische toestand van de patienten is beschreven in hoofdstuk IV. Daar betreft het dus een vergelijking van de drie 10-daagse perioden onderling. In dit hoofdstuk komt de beoordeling van het effect van de twee soorten eiwit afzonderlijk aan de orde. Steeds werden hiertoe twee 5-daagse perioden gedurende welke de stikstofdosering identiek was, vergeleken.

Bevindingen bij de patienten

De kliniek

Zoals reeds vermeld in hoofdstuk IV hebben er zich tijdens het balansonderzoek op geen van de toegepaste dieten klinische tekenen van encephalopathie voorgedaan. Het is dan ook onmogelijk op grond van dit onderzoek een beoordeling te geven of eiwit verrijkt met vertakte keten aminozuren enig voordeel boven natuurlijk eiwit heeft bij de behandeling van klinisch herkenbare encephalopathie. Wel is duidelijk geworden dat de smaak van toegevoegde aminozuren onaangenaam en op den duur ondragelijk is.

De cijferverbindingstesten

De bevindingen bij de cijferverbindingstesten staan vermeld in tabel V-1.

Alle waarnemingen op natuurlijk eiwit samengenomen, vindt men een score van $119 \pm 9\%$. Voor V.K.A.Z. verrijkt eiwit blijkt dit eveneens $119 \pm 9\%$ te zijn. Bij de meeste patienten veranderden de testresultaten tijdens het onderzoek nauwelijks. Alleen bij patient 1 (m., 61) is er wellicht enige verbetering; ook zou er van een leereffect sprake kunnen zijn. Er is een grote spreiding tussen de patienten onderling.

Tabel V-1. De cijferverbindingstesten (in % van normaal)

	40 gram eiwit		60 gram eiwit		80 gram eiwit	
	nat.	VKAZ	nat.	VKAZ	nat.	VKAZ
m., 61	134	146	101	106	93	95
m., 49	120	112	93	89	109	101
v., 52	108	121	84	70	89	87
v., 42	-	166	157	130	101	123
m., 52	193	254	193	170	257	209
v., 50	108	98	117	147	97	118
v., 73	121	105	108	75	128	144
m., 40	95	80	65	94	75	68

Het electro-encephalogram

Tijdens het gebruik van vertakte-keten aminozuren bedroeg de electro-encephalografie score $1,40 \pm 0,11$ punten, terwijl tijdens gebruik van natuurlijk eiwit een score gevonden werd van $1,44 \pm 0,12$ punten. Het verschil is niet significant. Ook hier wordt de slechtste score bij patient 5 (m., 52) gevonden.

Het ammoniak

Tijdens het gebruik van een dieet verrijkt met vertakte keten aminozuren bedroeg het ammoniak gemiddeld $62,7 \pm 6,9$ micromol/l. Bij gebruik van natuurlijk eiwit was dit $65,3 \pm 6,6$ micromol/l. Deze gemiddelden verschillen niet significant van elkaar.

De verhouding tussen vertakte-keten- en aromatische aminozuren

De verhouding tussen vertakte-keten aminozuren en aromatische aminozuren

(micromol/micromol) in het plasma bedroeg tijdens gebruik van extra vertakte-keten aminozuren $1,08 \pm 0,09$; tijdens gebruik van een dieet met natuurlijk eiwit was deze ratio $0,90 \pm 0,08$ ($p < 0,05$). Deze getallen zijn weliswaar significant verschillend maar liggen beide ver uit het normale gebied van ca. 3,5. Het is de vraag of deze verschillen biologisch van belang zijn. De verschillen worden verklaard door veranderingen zowel in de vertakte-keten aminozuren (stijging valine concentratie), als ook in de aromatische aminozuren (dalen van de tyrosine en tryptofaan concentratie).

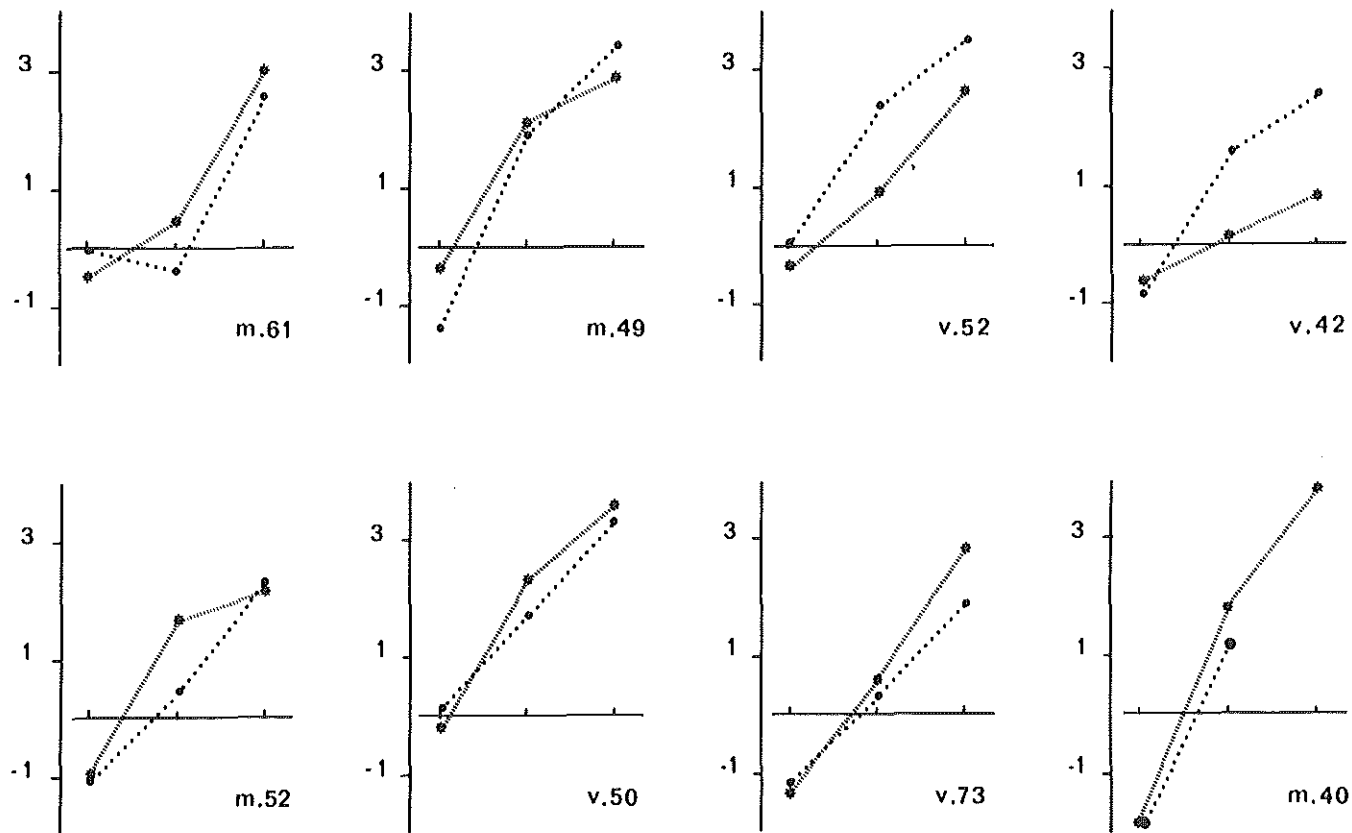
Albumine en retinolbindend eiwit

Tijdens gebruik van natuurlijk eiwit werd voor de plasma albumineconcentratie een gemiddelde waarde gevonden van $27,5 \pm 0,8$ g./l. Op vertakte-keten aminozuren verrijkt eiwit in het dieet was dit $23,8 \pm 0,9$ g./l. Deze waarden zijn niet significant verschillend. Dit wekt geen verwondering. Ook al zou de verlaagde plasma albumineconcentratie een uiting van eiwit-calorie-ondervoeding zijn, dan nog zouden, gezien de lange halfwaardetijd van albumine, na 5 dagen geen statistisch significante verschillen te verwachten zijn. Men zou dan echter wel verschillen moeten verwachten in de concentratie van retinolbindend eiwit. Deze werden evenwel ook niet gevonden. Bij gebruik van natuurlijk eiwit bedroeg de concentratie retinolbindend eiwit $0,14 \pm 0,02$ mg./l., terwijl op V.K.A.Z. verrijkt eiwit een waarde van $0,13 \pm 0,02$ mg./l. gemeten werd. Er is dus geen effect meetbaar van verandering van het type eiwit op de plasma concentraties van exporteiwitten uit de lever.

Het stikstofverlies in de faeces

Het stikstofverlies in de faeces lijkt op het eerste gezicht significant te verschillen op de verschillende typen eiwit. Zo wordt voor de groep van 8 patienten op natuurlijk eiwit een gemiddeld verlies van $2,06 \pm 0,13$ gram stikstof per 24 uur gevonden, terwijl dit op vertakte keten aminozuren verrijkt eiwit $2,28 \pm 0,13$ gram was ($p < 0,05$). De grootte van dit verschil blijkt echter sterk te zijn beïnvloed door de eerste patient (m., 61); waarschijnlijk speelt een mindere absorptie van aminozuren door de bacteriele overgroei in zijn dunne darm hierbij een rol. Wanneer de bevindingen bij deze patient terzijde gelegd worden en voor de resterende groep van 7 de gemiddelde verliezen in de faeces per 24 uur berekend worden, dan vinden we geen significante verschillen meer, $2,02 \pm 0,11$ gram stikstof per 24 uur op VKAZ verrijkt eiwit en $1,87 \pm 0,08$ gram op natuurlijk eiwit.

FIG.V-1. STIKSTOFBALANS (G.N./DAG) OP DIETEN MET 40, 60 EN 80 G.E./DAG.



(★) NATUURLIJK EIWIT

(•) NATUURLIJK EIWIT MET VERTAKTE-KETEN AMINOZUREN

Bovendien ligt het gemiddelde verlies nu meer in het gebied van normaal (tot 2 gram stikstof per 24 uur).

De stikstofbalans

De gemiddelde stikstofbalans op elk van de drie hoeveelheden eiwit is uitgerekend voor ieder van de beide typen eiwit apart. De bevindingen staan in tabel V-2.

tabel V-2. Het effect van het type eiwit op de stikstofbalans (g.N./24 uur)

	40 gram eiwit	60 gram eiwit	80 gram eiwit
natuurlijk eiwit	-0,83±0,12	+1,29±0,15	+2,49±0,19
VKAZ verrijkt eiwit	-0,73±0,14	+1,18±0,17	+2,87±0,20

Op geen van de drie hoeveelheden eiwit werden er significante verschillen gevonden die afhankelijk zijn van de verrijking met vertakte-keten aminozuren. Dat het geven van extra vertakte-keten aminozuren nuttig zou kunnen zijn voor het verbeteren van de stikstofbalans is hiermee dus niet aangetoond.

Tabel V-3. De minimale eiwitbehoefte

	natuurlijk eiwit		VKAZ verrijkt eiwit	
	g.E./d.	g.E./kg./d.	g.E./d.	g.E./kg./d.
m., 61	47,7	1,08	52,3	1,18
m., 49	39,9	0,47	48,6	0,57
v., 52	47,9	0,91	35,8	0,68
v., 42	54,0	0,96	45,0	0,80
m., 52	46,8	0,56	50,7	0,61
v., 50	43,1	0,55	37,4	0,48
v., 73	50,9	0,96	52,5	0,99
m., 40	50,4	0,50	51,6	0,51

De minimale eiwitbehoefte

De minimale eiwitbehoefte per patient kan berekend worden voor de beide typen eiwit afzonderlijk door telkens op basis van drie meetpunten een lineaire regressievergelijking op te stellen. De bevindingen staan vermeld in tabel V-3. De gemiddelde waarde voor de groep van 8 patienten is voor natuurlijk eiwit $47,6 \pm 1,6$ gram eiwit per dag of $0,75 \pm 0,09$ gram eiwit per kilogram per dag. Voor VKAZ verrijkt eiwit is dit $46,7 \pm 2,4$ gram eiwit per dag of $0,73 \pm 0,09$ gram eiwit per kilogram per dag. Deze getallen verschillen niet significant van elkaar.

De "net protein utilisation"

De net protein utilisation blijkt niet te verschillen voor beide typen eiwit; op natuurlijk eiwit wordt een utilisatiepercentage van 19 ± 3 gevonden, terwijl dit voor VKAZ verrijkt eiwit 17 ± 4 bedraagt. Op grond van dit criterium lijkt er dus geen verschil te zijn in biologische waarde tussen beide typen eiwit.

Het aminozuurpatroon

Tabel V-4 vermeldt de aminozuurconcentraties (in nuchtere toestand) in het veneuze plasma bij gebruik van de twee typen eiwit.

Tabel V-4. De aminozuurconcentraties (in micromol/l.)

	norm.waarde	natuurlijk eiwit		VKAZ verrijkt eiwit
leucine	136 ± 5	81 ± 6		84 ± 6
isoleucine	72 ± 3	52 ± 3		54 ± 3
valine	250 ± 9	127 ± 10	*	150 ± 11
phenylalanine	52 ± 3	83 ± 4		82 ± 3
tyrosine	71 ± 4	151 ± 11	**	135 ± 10
tryptofaan	52 ± 3	50 ± 3	*	46 ± 2

NB. * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$.

De plasma valineconcentratie lijkt hoger te zijn op VKAZ verrijkt eiwit in het voedsel. Mogelijk wordt dit verklaard door het hogere aanbod ervan in het dieet, maar leucine en isoleucine veranderen niet terwijl ze ook extra

aangeboden worden. De verklaring voor de lagere concentraties van tyrosine en tryptofaan is evenmin duidelijk. Het zou kunnen zijn dat de spiegels van deze aminozuren lager zijn omdat er meer van beiden in eiwit wordt ingebouwd. Anderzijds zou ook het vrijkomen van deze aminozuren uit afbraak van lichaamseiwit geremd kunnen zijn geweest. Op basis van de voorhanden gegevens kan uit deze mogelijkheden niet gekozen worden.

De hier gepresenteerde plasma aminozuur concentraties zijn gemeten in nuchtere toestand, dus 15 uur na het gebruik van de laatste maaltijd. Of er kort na het gebruik van het voedsel wel een tijdelijke normalisatie van het plasma aminozuurpatroon heeft plaatsgevonden onder invloed van het eiwit aangevuld met vertakte keten aminozuren valt uit dit onderzoek niet af te leiden.

De 3-methylhistidine uitscheiding

De bevindingen bij het meten van de uitscheiding van 3-methylhistidine en de 3-methylhistidine uitscheiding gecorreleerd aan de creatinine uitscheiding staan vermeld in de tabellen V-5 en V-6.

Tabel V-5. De uitscheiding van 3-methylhistidine

(gecorrigeerd voor exogeen 3-methylhistidine)

	natuurlijk eiwit	VKAZ verrijkt eiwit
40 gram eiwit dieet	186 ± 25	177 ± 24
60 gram eiwit dieet	173 ± 21	142 ± 20 [*]
80 gram eiwit dieet	175 ± 23	165 ± 20

NB. ^{*} $p < 0,05$, t.o.v. 40 g. eiwitdieet VKAZ verrijkt.

Tabel V-6. De 3-methylhistidine/creatinine ratio

	natuurlijk eiwit	VKAZ verrijkt eiwit
40 gram eiwit dieet	17,9 ± 1,7	18,8 ± 1,4
60 gram eiwit dieet	17,7 ± 1,7	16,1 ± 1,7 ^{**}
80 gram eiwit dieet	16,1 ± 1,5	17,9 ± 1,4

NB. ^{**} $p < 0,01$, t.o.v. 40 g. eiwitdieet VKAZ verrijkt.

De vergelijking van de bevindingen op natuurlijk eiwit en op VKAZ verrijkt eiwit toont in geen van de groepen significante verschillen.

De daling zowel in de 3-methylhistidine uitscheiding als ook in de 3-methylhistidine/creatinine ratio die op 60 gram eiwit per dag optreedt in vergelijking tot 40 gram eiwitopname, blijkt alleen plaats te vinden in de periodes waarin VKAZ verrijkt eiwit werd gegeven.

Conclusie.

Er zijn geen verschillen gevonden in de stikstofbalans, de stikstofbehoefte of plasma eiwit concentraties tijdens gebruik van natuurlijk eiwit of van eiwit waaraan extra vertakte keten aminozuren waren toegevoegd. Ook was er geen effect van eiwit met extra vertakte keten aminozuren waarneembaar op de latente encephalopathie, het ammoniak, de cijferverbindingstesten en de electro-encephalogrammen. Wel was er enige verbetering -maar zeker geen normalisatie- van het nuchtere plasma aminozuurpatroon bij gebruik van extra vertakte keten aminozuren. Ook in de uitscheiding van 3-methylhistidine werd enig verschil t.o.v. natuurlijk eiwit gevonden.

HOOFDSTUK VI

ONDERZOEK NAAR DE SNELHEID VAN EIWITOMZET

In dit hoofdstuk worden de resultaten besproken van het onderzoek naar de stikstofflux door de aminozuurpool en de snelheid van eiwitsynthese en van eiwitafbraak. Het onderzoek is verricht bij patienten met levercirrhose en als controle bij gezonden.

Het onderzoek werd uitgevoerd als vervolg op het eerder uitgevoerde balansonderzoek. De doelstelling ervan was het verkrijgen van meer inzicht in de dynamiek van de eiwitstofwisseling. Zo is getracht te begrijpen waarom de patienten zo'n hoge stikstofbehoefte lijken te hebben. Ook is onderzocht wat er gebeurt als men een patient een eiwitarm dieet voorschrijft.

Voorts bestond de mogelijkheid met deze onderzoekstechniek patienten onder verschillende dieten met gezonde controlepersonen te vergelijken.

Controle op de toepasbaarheid van de techniek

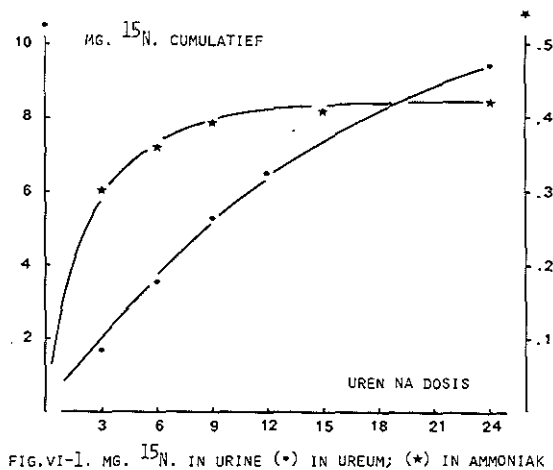
In de gekozen techniek van turnovermeting wordt de stikstofflux berekend uit de cumulatieve uitscheiding van een toegediend stikstofisotoop (^{15}N) in de eindproducenten ammoniak en ureum in de urine (29).

Bij gezonde individuen is aangetoond dat deze uitscheiding nagenoeg voltooid is in 9 uur tijds. Het gebruikte verzamelschema voor urine is hierop gebaseerd. Wanneer men de eiwitstofwisseling bij patienten met levercirrhose wil gaan onderzoeken en deze wil vergelijken met die van gezonde controlepersonen, moet men eerst weten of ook bij patienten voldaan is aan de voorwaarden waaronder deze meettechniek gebruikt mag worden. Dit betekent dat aangetoond moet worden dat inderdaad de uitscheiding van isotoop in het gekozen

eindproduct in 9 uur tijds voltooid zal zijn.

Daarom is bij een aantal patienten en bij enkele controlepersonen nagegaan of aan deze voorwaarde was voldaan.

Hiertoe werd het 9 uren verzamelschema van de urine opgesplitst in 3 perioden van 3 uur elk. De urine werd per 3 uren periode verzameld. Daarna werd zoals beschreven één uursportie verzameld (9 - 10 uur). Bovendien ging na afloop hiervan het verzamelen door tot de volgende ochtend 09.00 uur; dat wil zeggen, tot 24 uur na de ^{15}N glycinegift. In iedere periode (0 - 3, 3 - 6, 6 - 9, 9 - 10, 10 - 24) werd de uitscheiding van isotoop kwantitatief gemeten. Uit deze gegevens kon de cumulatieve uitscheiding berekend worden. Fig. VI-1 geeft een beeld van een cumulatieve uitscheiding van ^{15}N ammoniak en ureum in de urine gevonden bij een controlepersoon.



Het blijkt vaak moeilijk te zijn een lijn te construeren die alle punten vloeiend verbindt.

Wanneer men aanneemt dat de getrokken lijn juist is dan komt de meetwaarde op 24 uur boven de lijn te liggen. Trekt men daarentegen de lijn door de meetwaarde op 24 uur, dan komen de punten op 6 en 9 uur onder de lijn te liggen.

Om de meetwaarde bij de patienten en controles te interpreteren, werd een hulpfiguur getekend (Fig. VI-2). De redenering is nu als volgt. Wanneer de cumulatieve uitscheiding van een isotoop in een eindproduct inderdaad in 9

uur tijds nagenoeg voltooid is dan loopt de cumulatieve uitscheidingscurve daarna vrijwel horizontaal. De helling van de curve kan men beoordelen door paren van meetpunten te nemen (x en y, a en b) en die waarden op elkaar te delen (x/y , a/b). Loopt de curve bijna horizontaal, dan liggen beide meetpunten vrijwel even hoog en benadert het quotient de waarde 1 (voorbeeld x/y). Loopt de curve daarentegen nog op dan zijn beide meetpunten niet gelijk groot en is het quotient kleiner dan 1 (voorbeeld a/b).

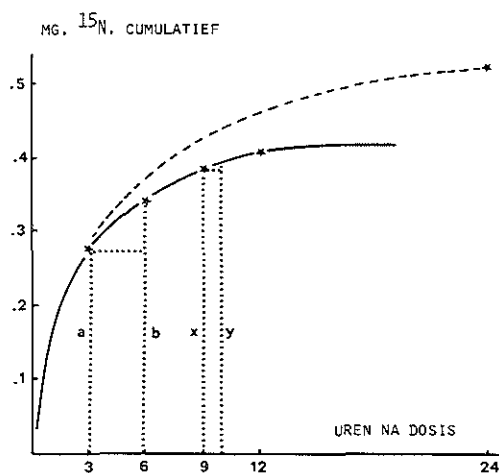


FIG. VI-2. MG. ^{15}N . IN URINE IN AMMONIAK.

Uit de cumulatieve uitscheiding op de verschillende tijdstippen konden nu de bovenbeschreven berekeningen uitgevoerd worden. Tussen de cumulatieve uitscheiding op 3 en op 6 uur vindt men voor de patienten een quotient van 68 (controles 80); de uitscheidingscurve loopt in dit traject blijkbaar op. Tussen de meetwaarden op 6 en op 9 uur blijkt het quotient voor de patienten 89 (controles 88) te zijn. Hieruit volgt dat de helling van de curve in dit gebied vlakker is geworden. Tussen 9 en 10 uur is het quotient voor de patienten 95 (controles 96); de uitscheidingscurve loopt dan dus vrijwel horizontaal. Dit betekent dat de uitscheiding van ^{15}N ammoniak dan nagenoeg voltooid is. Daarentegen ziet men dat tussen 10 en 24 uur zowel voor de patienten (87) als ook voor de controles (82) het quotient weer gaat dalen. Blijkbaar gaat de cumulatieve uitscheidingscurve weer oplopen. Dit wil zeggen dat de uitscheiding van ^{15}N ammoniak na 9 uur weer toeneemt. Dit moet wel haast betekenen dat er isotoop vrijkomt en terugkeert naar de aminozuurpool

vanuit de eiwitpool. Waarschijnlijk is dit isotoop ingebouwd geweest in eiwitten met een zeer korte halfwaardetijd.

De conclusie is dat de keuze van de verzameltijd zowel voor de controles als voor de patienten juist is; het onderzoek kan dus ook bij patienten met levercirrhose op deze wijze uitgevoerd worden.

Eveneens is gecontroleerd of bij patienten de aanname juist is dat er tijdens het onderzoek een toestand van metabool evenwicht ("steady state") bestaat; in dat geval mag de totale lichaams aminozuurpool (AZ) tijdens het onderzoek niet van grootte veranderen. Dit valt niet te controleren. Wel kan men de plasma aminozuurconcentraties vergelijken. Tabel VI-1. geeft de gemiddelde waarde aan van het alfa-aminostikstofgehalte van het plasma op verschillende tijdstippen.

Tabel VI-1. Alfa-aminostikstof (mg.N./l.) aan het begin en aan het einde van het eiwitturnoveronderzoek

	gevoed 1 g.E./kg.		vastend	
	t = 0	t = 9	t = 0	t = 9
controles	53,6 ± 1,7	53,6 ± 1,6	53,7 ± 2,0	45,6 ± 1,6
patienten	49,8 ± 2,4	** 57,2 ± 2,3	54,4 ± 2,0	46,1 ± 1,5

** $p < 0,01$. t.o.v. t=9.

Er is geen verschil in de plasmaconcentratie van alfa aminostikstof in nuchtere toestand (t=9 vastend) tussen controles en patienten.

Tijdens het onderzoek met voeding neemt de plasma alfa aminostikstofconcentratie bij de patienten significant toe; bij de controles verandert ze niet.

Bij de patienten is dus niet geheel voldaan aan de voorwaarde dat de metabole aminozuurpool tijdens het onderzoek niet verandert. De toename in alfa aminostikstof in het plasma is gemiddeld 7,4 mg./l. Het gemiddelde totale lichaamswater bij de patienten is 38 liter.

Aangenomen dat de aminozuren zich over het gehele watercompartiment van het lichaam verdelen, wordt de aminozuurpool bij de patienten 0,3 g. stikstof groter in 9 uur tijd. Dit is van invloed op de resultaten. De directe invloed

van een grotere aminozuurpool op de synthesesnelheid kunnen wij niet schatten. Wel kunnen we dit verdisconteren in de berekeningen met de formule

$$Q = A + O = S + E.$$

We vinden dan een overschatting van de gemiddelde synthesesnelheid (24,1 g.N./9 uur) met 1,2%. De overschatting van de gemiddelde snelheid van eiwitafbraak (16,7 g.N./9 uur) is 2%.

Deze kleine fout invalideert de verder in dit hoofdstuk beschreven conclusies waarschijnlijk niet.

Tabel VI-2. Reproduceerbaarheid van de meting van de eiwitturnover

			ammoniak			ureum		
kg.			Q	S	A	Q	S	A
m., 40	92	(X)	371	256	237	519	404	384
		(X)	371	281	237	352	262	219
		(Y)	282	179	122	-	-	-
		(Y)	323	210	163	-	-	-
		(Z)	184	149	184	192	156	192
		(Z)	186	143	186	200	158	200
m., 44	66	(Y)	336	235	179	-	-	-
		(Y)	380	274	223	-	-	-
		(Y)	321	218	164	368	265	211
		(X)	341	244	223	335	238	217
m., 29	57	(Y)	319	207	181	-	-	-
		(Y)	338	216	170	365	242	196
		(X)	312	225	186	295	207	168

NB. (X) voeding begonnen 2 uur voor start onderzoek; (Y) voeding begonnen bij start onderzoek; (Z) vastend; Q = stikstoflux; S = eiwitsynthese; A = eiwitafbraak; uitslagen in g.N./kg./9 uur.

Reproduceerbaarheid van de eiwitturnovermeting

Ter bepaling van de reproduceerbaarheid van de meting van de eiwitturnover is bij een drietal gezonde personen het onderzoek enkele malen herhaald. Het interval tussen de verschillende metingen was steeds lang, minimaal enkele maanden soms wel meer dan een jaar.

Uit tabel VI-2. blijkt dat de reproduceerbaarheid tussen 2 aparte metingen soms verrassend goed is. Dit geldt met name voor beide metingen (X) bij m., 40, beoordeeld op ammoniak; voor de metingen (Z) is de overeenkomst bij deze controlepersonen eveneens voortreffelijk zowel voor ammoniak als ureum. Een redelijke mate van reproduceerbaarheid wordt gevonden bij m., 44 voor de 3 testen (Y), bij m., 29 eveneens voor de testen (Y), alsook bij m., 40 voor de testen (Y). Daar staat tegenover dat er ook grote en onverklaarde discrepanties aan het licht komen. Dit geldt met name voor de beide testen (X) beoordeeld op ureum bij m., 40.

Er is geen systematisch verschil te zien tussen de uitslagen berekend op ammoniak of ureum. Soms vallen de waarden op ureum hoger uit, dan weer is het juist andersom en levert de ammoniakmethode hogere uitslagen.

Op grond hiervan is besloten voor zowel de flux, de synthese als ook de afbraak de gemeten waarden met de ammoniakmethode en de ureummethode te middelen. Een dergelijke handelswijze wordt ook in de literatuur geadviseerd (29). Deze gemiddelde waarden zijn vervolgens steeds gebruikt bij alle vergelijkingen die onderstaand beschreven worden.

Bij de metingen (X) start men de voeding 2 uur voor het begin van het onderzoek. De proefpersoon is dan in metabool evenwicht in de gevoede toestand als de urineverzameling begint. Bij de metingen (Y) begint de voeding gelijktijdig met het starten van het onderzoek: het metabole evenwicht stelt zich dan in tijdens het onderzoek. Dit verschil in procedure lijkt andere uitkomsten te geven wanneer men de reeksen (X) en (Y) bij m., 40 bekijkt; de lagere uitkomsten bij (Y) suggereren dat daar een situatie is onderzocht tussen de gevoede en de vastende toestand in. Daarentegen is er bij m., 44 en m., 29 geen duidelijk verschil tussen de series (X) en (Y).

Alle uitslagen gepresenteerd in dit hoofdstuk en in de tabellen IX-17 tot IX-24 zijn verkregen met de methoden (X) en (Z).

De onderzochte patienten

Gegevens betreffende de onderzochte groep van 16 patienten staan vermeld in VI-3. Geen van deze patienten gebruikte tijdens dit onderzoek Prednison. Er waren geen patienten bij met diabetes mellitus.

Tabel VI-3. De onderzochte patienten

leeftijd	lengte	gewicht	diagnose
m., 31	1,76	58	cryptogene cirrhose
m., 44	1,87	100	alcoholische cirrhose
m., 53	1,83	91	alcoholische cirrhose
m., 53	1,82	95	alcoholische cirrhose
m., 55	1,79	82	C.A.H. + cirrhose
m., 58	1,85	78	alcoholische cirrhose
m., 58	1,58	68	cryptogene cirrhose; hepatoom
m., 59	1,68	70	alcoholische cirrhose
m., 69	1,69	75	cryptogene cirrhose
v., 33	1,63	51	alcoholische cirrhose
v., 39	1,59	49	alcoholische cirrhose
v., 58	1,78	72	C.A.H. + cirrhose
v., 60	1,59	68	alcoholische cirrhose
v., 63	1,61	60	alcoholische cirrhose
v., 70	1,58	59	cryptogene cirrhose
v., 73	1,61	80	cryptogene cirrhose

NB. C.A.H. = chronische actieve hepatitis.

In tabel VI-4 staan de gegevens vermeld betreffende de gezonde controlegroep. Geen van de personen in deze groep gebruikte enigerlei medicatie.

Tabel VI-4. De controlepersoon

leeftijd	lengte	gewicht	leeftijd	lengte	gewicht
m., 29	1,68	57	v., 34	1,76	60
m., 32	1,82	82	v., 40	1,74	58
m., 40	1,86	92	v., 47	1,68	63
m., 44	1,68	66	v., 56	1,68	64
m., 51	1,78	97	v., 66	1,65	70
m., 64	1,68	75	v., 68	1,55	52

De resultaten van het onderzoek

De resultaten van het onderzoek zijn samengevat in de tabellen IX-17 tot IX-24 in de appendix. Hier zullen ze verder besproken worden.

Het effect van eiwitbeperking

Het effect van eiwitbeperking in het dieet wordt afgelezen aan de verschillen in de stikstoflux, de eiwitsynthese en de eiwitafbraak, die gezien worden wanneer de proefpersoon 1 gram eiwit per kg. lichaamsgewicht per dag dan wel 0,5 g. eiwit/kg./dag krijgt. De toegepaste dieten waren wel isocalorisch.

Tabel VI-5. Eiwitturnover bij controlepersonen; gevoede toestand;
vergelijking 0,5 g.E./kg./dag (n=8) en 1 g.E./kg./dag (n=12);
uitslagen in mg.N./kg./9 uur

	ammoniak		ureum		gemiddeld	
	1 g.E.	0,5 g.E.	1 g.E.	0,5 g.E.	1 g.E.	0,5 g.E.
flux	291 ± 16	242 ± 20	312 ± 19 **	238 ± 15	302 ± 13 **	240 ± 11
synthese	205 ± 17	175 ± 23	226 ± 17 *	171 ± 15	216 ± 13 *	173 ± 13
afbraak	162 ± 16	176 ± 20	183 ± 19	171 ± 15	173 ± 14	174 ± 10

NB. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; geen markering: niet significant.

Uit tabel VI-5 valt af te lezen dat de stikstoflux uitgedrukt in mg.N./kg./9 uur bij de controlepersonen daalt wanneer de hoeveelheid eiwit in het dieet afneemt. Ook de eiwitsynthese snelheid neemt af in de zelfde eenheden. Er wordt geen verschil gevonden in de snelheid van eiwitafbraak. Het ziet er dus naar uit dat in de gegeven omstandigheden de synthese van eiwit variabel is in tegenstelling tot de afbraak.

Bij de patienten valt op dat de verschillen in flux en synthese die bij gezonden gevonden werden hier niet teruggevonden worden. Met andere woorden, onder de omstandigheden van dit experiment wordt de synthesesnelheid van eiwit niet door de intake beïnvloed.

Tabel VI-6. Eiwitturnover bij cirrhose; gevoede toestand;
vergelijking 0,5 g.E./kg./dag (n=8) en 1 g.E./kg./dag (n=14);
uitslagen in mg.N./kg./9 uur

	ammoniak		ureum		gemiddeld	
	1 g.E.	0,5 g.E.	1 g.E.	0,5 g.E.	1 g.E.	0,5 g.E.
flux	331 ± 28	310 ± 28	388 ± 26	377 ± 51	360 ± 17	344 ± 27
synthese	276 ± 32	272 ± 33	333 ± 28	339 ± 48	305 ± 21	306 ± 27
afbraak	200 ± 28	246 ± 30	258 ± 26	313 ± 50	229 ± 17	280 ± 28

NB. Geen significante verschillen.

Een tweede verschil tussen de patienten en de controlegroep is dat er bij de patienten een verhoogde eiwitafbraaksnelheid lijkt te bestaan op een eiwitarm dieet; statistisch is dit verschil echter niet significant.

Het verschil tussen voeden en vasten

De vergelijking tussen voeden en vasten kan worden opgevat als een onderzoek naar een nog extremere vorm van eiwitbeperking dan in de boven beschreven paragraaf het geval was. Er is echter een essentieel verschil tussen eiwitbeperking en vasten. Bij het onderzoek op een halve dosering eiwit kreeg de patient namelijk een "normaal" aantal calorieën toegediend; tijdens het vasten echter worden per definitie geen calorieën gegeven.

Tabel VI-7. Eiwitturnover bij controlepersonen;
(vergelijking voeden (1 gram E./kg.; n=12) en vasten (n=10))
uitslagen in mg.N./kg./9 uur

	ammoniak		ureum		gemiddeld	
	1 g.E.	0 g.E.	1 g.E.	0 g.E.	1 g.E.	0 g.E.
flux	291 ± 16 **	216 ± 16	312 ± 19 **	210 ± 15	302 ± 13 **	210 ± 9
synthese	205 ± 17	164 ± 15	226 ± 17 **	157 ± 16	216 ± 13 **	157 ± 7
afbraak	162 ± 16	216 ± 16	183 ± 19	210 ± 15	173 ± 14 *	210 ± 9

NB. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; geen markering: niet significant.

Tabel VI-7 geeft de bevindingen bij de groep controlepersonen. Uit deze tabel blijkt dat de veranderingen die werden waargenomen op een eiwitarm dieet, tijdens vasten in versterkte mate wordt teruggevonden. De verschillen zijn significant.

De stikstofflux neemt bij vasten af alsook de snelheid van eiwitsynthese. Er is echter meer te zien. Ten opzichte van het eiwitarme dieet is tijdens volledig vasten nu ook de snelheid van eiwitafbraak significant gaan toenemen.

Vergelijkt men de bevindingen bij de controles met die bij een groep patiënten met levercirrhose (tabel VI-8) dan valt op dat bij de patiënten wederom de spreiding groter is dan bij de controlegroep.

Tabel VI-8. Eiwitturnover bij patiënten met levercirrhose;
(vergelijking voeden (1 g.E./kg.; n=14) en vasten (n=12))
(uitslagen in mg.N./kg./9 uur)

	ammoniak		ureum		gemiddeld	
	1 g.E.	0 g.E.	1 g.E.	0 g.E.	1 g.E.	0 g.E.
flux	331 ± 28	244 ± 33	388 ± 26	339 ± 41	360 ± 17	292 ± 33
synthese	276 ± 32	202 ± 31	333 ± 28	298 ± 39	305 ± 21	250 ± 30
afbraak	200 ± 28	244 ± 33	258 ± 26	339 ± 41	229 ± 17	292 ± 33

NB. Verschillen statistisch niet significant. NB. Ongepaarde test.

Bij de patiënten dalen de stikstofflux en de snelheid van eiwitsynthese tijdens vasten ogenschijnlijk terwijl de snelheid van eiwitafbraak lijkt toe te nemen. Toch blijkt geen van deze verschillen statistisch significant te zijn. Dit moet haast wel samenhangen met een grote spreiding in de resultaten die waarschijnlijk duidt op inhomogeniteit van de patientengroep.

Een aanzienlijk aantal patiënten (n=11) was zowel in gevoede als ook in vastende toestand onderzocht. Hierdoor was het mogelijk een subgroep te maken van patiënten die onder beide omstandigheden waren onderzocht. Op deze subgroep kon een test voor gepaarde waarnemingen worden uitgevoerd. De vraag hierbij was of er toch geen verschillen tussen voeden en vasten gevonden zouden kunnen worden die bij de ongepaarde test versluierd waren.

Tabel VI-9. Eiwitturnover bij patienten met levercirrhose;
(vergelijking voeden (1 g.E./kg.; n=11) en vasten (n=11))
uitslagen in mg.N./kg./9 uur

	ammoniak		ureum		gemiddeld	
	1 g.E.	0 g.E.	1 g.E.	0 g.E.	1 g.E.	0 g.E.
flux	348 ± 34 **	232 ± 33	395 ± 33	326 ± 43	372 ± 19 *	279 ± 33
synthese	292 ± 39 **	191 ± 32	339 ± 34	285 ± 40	316 ± 25 **	238 ± 30
afbraak	225 ± 35	232 ± 33	265 ± 33	326 ± 43	241 ± 20	279 ± 33

NB. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$. NB. Gepaarde waarnemingen.

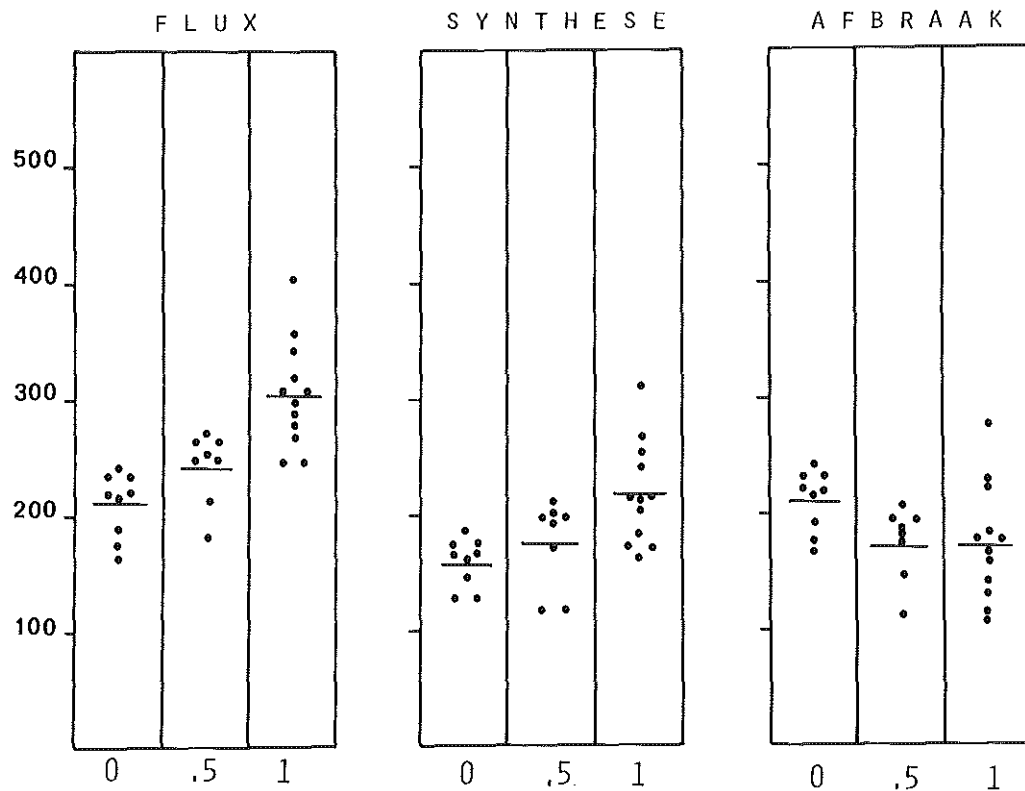
Uit tabel VI-9 blijkt dat er nu in de groep cirrhosepatienten wel degelijk significante verschillen aan het licht komen. De snelheid van synthese daalt bij vasten significant, terwijl er ook een significante daling van de flux gevonden wordt. Verschillen in de snelheid van afbraak van eiwit worden echter niet gevonden. De gevonden verschillen tonen een "trend" maar deze is minder duidelijk dan bij de gezonden. In hoeverre hier toch nog inhomogeniteit van de groep in het spel is of pathofysiologische verschillen tussen cirrhotici en controles valt niet te zeggen.

Vergelijking van controlepersonen en patienten

Tot nu toe zijn steeds de patienten onderling en de controles onderling vergeleken op de verschillende dieten. Nu zal daarentegen voor elk individueel dieet de groep patienten met de groep controles vergeleken worden.

Hieruit zal blijken dat er belangrijke verschillen zijn tussen patienten en controles, verschillen die merkwaardigerwijs grotendeels verdwijnen als de persoon in het geheel geen voedsel nuttigt. De vergelijking tussen patienten en controlepersonen heeft gescheiden plaatsgevonden op elk der drie stikstofdoseringen. Veelal blijkt dat bij patienten de spreiding groter is dan bij controlepersonen. De interindividuele verschillen lijken dus bij de cirrhosepatienten groter te zijn. Voor de hand ligt te denken dat dit met de ernst van het ziekteproces te maken zal hebben.

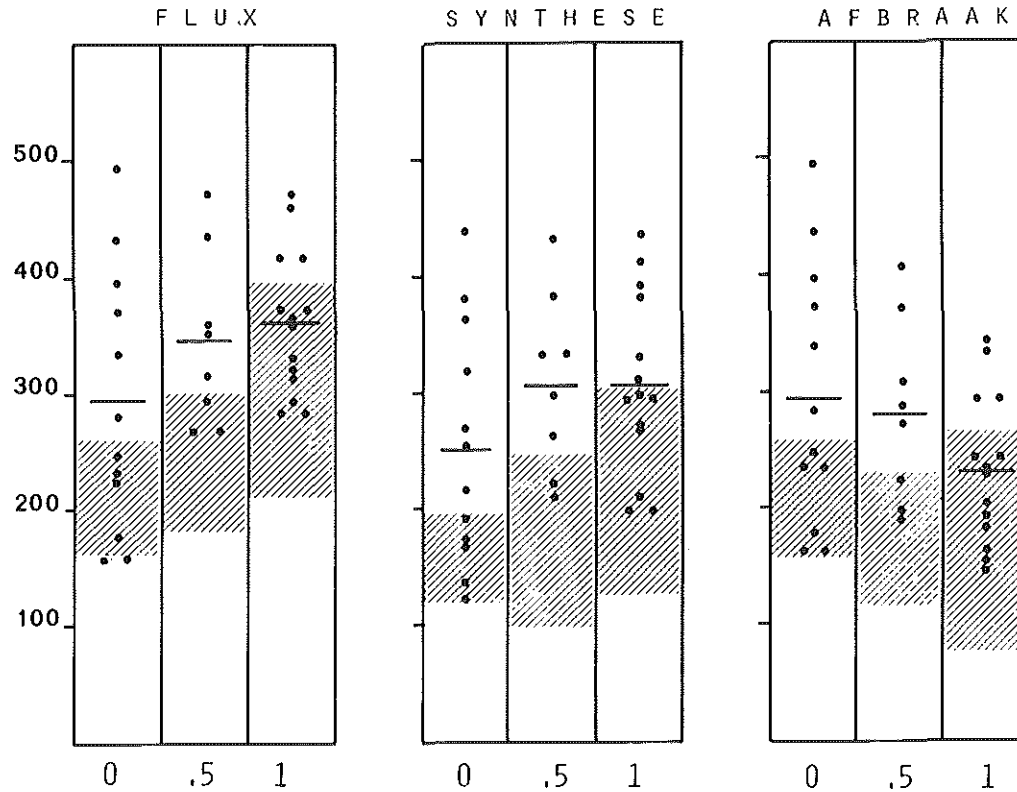
FIG.VI-3. EI WIT TURNOVER BIJ CONTROLES.



Uitslagen (gemiddelde waarden) in mg.N./kg./9 uur.

"Dieten": (0) = vastend; (.5) = 0,5 g.E./kg.; (1) = 1 g.E./kg.

FIG.VI-4, EIWITTURNOVER BIJ PATIENTEN,



Uitslagen (gemiddelde waarden) in mg.N./kg./9 uur.

"Dieten": (0) = vastend; (.5) = 0,5 g.E./kg.; (1) = 1 g.E./kg.

"Normale" gebied ($\bar{x} \pm 2sd$) gearceerd.

Uit tabel VI-10 blijkt dat bij de patienten in vergelijking met de controles in de gevoede toestand op een dieet met 1 g. eiwit per kilogram zowel de stikstof flux als ook de snelheid van eiwitsynthese en eiwitafbraak verhoogd zijn.

Tabel VI-10. Vergelijking patienten (n=14) - controlepersonen (n=12);
gevoed 1 g.E./kg.
uitslagen in mg.N./kg./9 uur

	ammoniak		ureum		gemiddeld	
	contr.	pat.	contr.	pat.	contr.	pat.
flux	291 ± 16	331 ± 28	312 ± 19 *	388 ± 26	302 ± 13 *	360 ± 17
synthese	205 ± 17	276 ± 32	226 ± 17 **	333 ± 28	216 ± 13 **	305 ± 21
afbraak	162 ± 16	200 ± 28	183 ± 19	258 ± 26	173 ± 14 *	229 ± 17

NB. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$.

Geeft men de proefpersonen in plaats van 1 g. eiwit/kg./dag slechts 0,5 g. eiwit/kg./dag dan blijken bij de controles zowel de flux als ook de synthese te dalen. Bij de patienten daarentegen blijven deze grootheden gelijk. Het verschil tussen patienten en controles wordt derhalve duidelijker.

Tabel VI-11. Vergelijking patienten (n=8) - controlepersonen (n=8);
gevoede toestand: 0,5 g.E./kg.
uitslagen in mg.N./kg./9 uur

	ammoniak		ureum		gemiddeld	
	contr.	pat.	contr.	pat.	contr.	pat.
flux	242 ± 20	310 ± 28	238 ± 15 **	377 ± 51	240 ± 11 **	344 ± 27
synthese	175 ± 23 *	272 ± 33	171 ± 15 **	339 ± 48	173 ± 13 **	306 ± 27
afbraak	176 ± 20	246 ± 30	171 ± 15 **	313 ± 50	174 ± 10 **	280 ± 28

NB. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$.

Wat de afbraaksnelheid van eiwit betreft, deze neemt toe bij de patienten.

Bij de controles verandert ze niet. Ook hier wordt het verschil tengevolge van eiwitbeperking dus duidelijker. De omzet van stikstof blijkt bij de patient met levercirrhose sneller te verlopen dan bij gezonde controles.

Tabel VI-12. Vergelijking patienten (n=12) - controlepersonen (n=9): vastend uitslagen in mg.N./kg./9 uur

	ammoniak		ureum		gemiddeld	
	contr.	pat.	contr.	pat.	contr.	pat.
flux	216 ± 16	244 ± 33	210 ± 15 *	339 ± 41	210 ± 9	292 ± 33
synthese	164 ± 15	203 ± 31	157 ± 16 **	298 ± 39	157 ± 7 *	250 ± 30
afbraak	216 ± 16	244 ± 33	210 ± 15 *	339 ± 41	210 ± 9	292 ± 33

NB. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$.

Terwijl beperking van de eiwit hoeveelheid in de voeding de verschillen tussen de patienten en controles duidelijker maakte, verdwijnen deze verschillen grotendeels als de proefpersonen in het geheel niets te eten krijgen.

In de vastende toestand worden er geen verschillen meer gevonden tussen de controlepersonen en de patienten wat betreft de stikstof flux en uiteraard de eiwitafbraak, die dan per definitie gelijk is aan de flux. In beide groepen, controles en patienten, is de flux omlaag gegaan. Alleen de snelheid van eiwitsynthese is bij de patienten nog significant hoger.

De stikstofbalans

Wanneer men de eiwitafbraak van de eiwitsynthese aftrekt dan ontstaat de stikstofbalans.

Uit de formule $Q = S + E = B + I$

volgt dat $S = Q - E$ en $B = Q - I$.

Dan is $S - B = (Q - E) - (Q - I) = I - E$.

Dit is dus het verschil tussen opname en verlies van stikstof, per definitie de stikstofbalans, uitgedrukt in grammen stikstof per 9 uur.

Berekent men de gemiddelde waarden bij patienten en controlepersonen dan ziet men dat de balans tijdens voeden met 1 g. eiwit/kg./dag voor beide groepen

positief is, gemiddeld $+42,9 \pm 4,7$ mg. stikstof/kg./9 uur voor de controles (n=12) en gemiddeld $+75,5 \pm 6,1$ mg. stikstof/kg./9 uur voor de patienten (n=14) ($p < 0,01$). De patienten hebben dus een meer positieve stikstofbalans dan de controlepersonen.

Op een intake van 0,5 g. eiwit/kg./dag zijn de controlepersonen (n=8) vrijwel in stikstofevenwicht, gemiddeld $-0,6 \pm 4,5$ mg.N./kg./9 uur, terwijl de patienten (n=8) nog in duidelijk positieve balans zijn, gemiddeld $25,5 \pm 4,1$ mg./kg./9 uur ($p < 0,01$).

Het ziet ernaar uit dat de patienten tijdens voeden een effectiever gebruik maken van de aangeboden stikstof.

In de vastende toestand zijn beide groepen in de stikstofbalans negatief; de patienten (n=12) verliezen dan gemiddeld $41,8 \pm 4,7$ mg.N/kg/9 uur, terwijl de gezonde controles (n=9) gemiddeld $53,4 \pm 3,8$ mg.N/kg./9 uur verliezen. Deze laatste getallen verschillen niet significant van elkaar.

Het verschil in balans kan niet door verandering in de aminozuurspiegel bij de patienten verklaard worden. Immers, met een gemiddeld lichaamsgewicht van 72 kg. en een gemiddelde balans die $32,6$ mg.N./kg./9 uur hoger uitvalt dan bij de controles, is de "winst" t.o.v. de controles $2,3$ gram stikstof/9 uur. De verandering van de aminozuurpool bedroeg $0,3$ g. stikstof per 9 uur. Er blijft dus 2 gram stikstof extra over die in eiwit moet zijn ingebouwd.

De effecten van eiwit aangevuld met vertakte keten aminozuren

Tabel VI-13. De effecten van VKAZ verrijkt eiwit

				ammoniak			ureum		
				Q	S	A	Q	S	A
		kg.							
patienten	v., 33	51	(I)	222	167	157	647	590	580
			(II)	241	210	176	371	339	306
	m., 53	95	(I)	291	248	204	487	443	400
			(II)	283	234	197	441	392	353
controles	m., 40	92	(I)	219	168	152	277	222	210
			(II)	209	148	141	279	218	212
	m., 44	66	(I)	220	158	155	282	220	215
			(II)	244	185	179	355	295	288

Ter beoordeling van het effect op de stikstofflux, de snelheid van eiwitsynthese en afbraak, van eiwit verrijkt met vertakte keten aminozuren is bij twee patienten en bij twee controlepersonen een turnoveronderzoek gedaan met dit type eiwit. De resultaten werden vergeleken met die tijdens gebruik van natuurlijk eiwit. Dit is niet meer dan een oriënterend onderzoek waaruit geen grote conclusies getrokken zullen worden.

Met (I) zijn de resultaten aangeduid die werden verkregen tijdens gebruik van natuurlijk eiwit. De bevindingen bij gebruik van eiwit aangevuld met vertakte keten aminozuren staan vermeld in de regels (II). De patient m., 53 gebruikte 0,67 g. eiwit/kg. tijdens dit onderzoek. De drie anderen kregen 0,5 g. eiwit/kg.

Uit de bevindingen blijkt dat er ogenschijnlijk geen verschil bestaat in stikstofflux, eiwitsynthese en eiwitafbraak bij gebruik van het ene of het andere dieet. Als er een verschil tussen beide groepen zou zijn, dan is een veel groter aantal waarnemingen nodig om dit te staven.

Conclusie.

De snelheid van eiwitsynthese en eiwitafbraak op een normaal dieet is bij patienten met levercirrhose toegenomen in vergelijking met gezonde controles. Op een eiwitarm dieet daalt de eiwitsynthese bij controles; bij patienten treedt geen verandering op. Tijdens volledig vasten dalen bij de controles zowel de eiwitsynthese als ook de eiwitafbraak; bij de patienten wordt alleen een daling van eiwitsynthese gevonden. Ook onder deze omstandigheden is bij de patienten de snelheid van eiwitsynthese groter. De patienten retineren tijdens voeden meer stikstof dan de controles; tijdens vasten is er wat dit betreft geen verschil. De spreiding in de resultaten is groter bij de groep patienten dan bij de controles.

HOOFDSTUK VII

BESPREKING EN CONCLUSIES

Dit proefschrift beschrijft enkele aspecten van de stikstofhuishouding van patienten met levercirrhose. De belangstelling voor dit onderwerp kwam langs twee wegen tot stand.

Enerzijds wordt aan het ziekbed waargenomen dat bij patienten met chronische leverziekten regelmatig eiwitondervoeding voorkomt (84). Dit komt het welbevinden niet ten goede en kan bovendien onaangename gevolgen hebben (86). In sommige gevallen moet men, ondanks de eiwitondervoeding, deze patienten toch behandelen met een eiwitarm dieet ter bestrijding van portosystemische encephalopathie.

Anderzijds werd de belangstelling gewekt door de "valse neurotransmitter - aminozuurtheorie" die ter verklaring van deze encephalopathie is opgesteld (123). Deze theorie zegt dat de verstoring van de werking van de hersenen bij leverinsufficiëntie verklaard kan worden uit een tekort aan normale neurotransmitters en uit de aanwezigheid in de hersenen van valse neurotransmitters (34) die daar gevormd zijn als gevolg van een afwijkend aminozuurpatroon in plasma en liquor (12,110). Men ziet dan een toename van aromatische aminozuren, gepaard gaande met het dalen van de vertakte-keten aminozuren (110). Deze verstoring nu op zijn beurt zou het gevolg zijn van een katabole toestand in het lichaam waarbij vertakte-keten aminozuren in vet- en spierweefsel versneld worden afgebroken (123). De consequentie van deze gedachtengang was dat de behandeling van encephalopathie zou moeten bestaan uit herstel van anabole verhoudingen (123) en correctie van het verstoorde aminozuurpatroon door toevoer van extra vertakte- keten aminozuren (33).

De vraag moest nu worden gesteld of patienten die wegens een vroeger doorgemaakte encephalopathie behandeld werden met een eiwitarm dieet, niet katabool, dat wil zeggen in negatieve stikstofbalans waren. En zo ja, hoeveel eiwit men deze patienten dan wel moest geven om de stikstofbalans positief te houden. Met andere woorden, wat is voor deze groep patienten de minimale stikstofbehoefte ?

De volgende vraag luidde of een deficient dieet inderdaad tot een verergering van encephalopathie leidde. Zo ja, verbeterde de toestand dan wanneer de patient weer in stikstofevenwicht werd gebracht ?

Indien het raadzaam was patienten met acute encephalopathie te behandelen met een intraveneus toegediend eiwitpreparaat waaraan extra vertakte-keten aminozuren zijn toegevoegd (33), was het dan ook niet beter dit zelfde type voeding oraal te geven bij chronische behandeling (38) ? En was dit type eiwitvoeding inderdaad effectiever dan natuurlijk eiwit bij de bestrijding van katabolie, zoals men wel beschreven heeft (14,74) ?

Uit de literatuur was bekend dat patienten met levercirrhose tijdens balansonderzoek in stikstofevenwicht komen met meer dan 35 g. eiwit per dag (39). Hieruit is destijds de conclusie getrokken dat de meeste patienten in stikstofevenwicht zijn met 56 g. eiwit per dag, terwijl alle patienten in balans gehouden kunnen worden met 75 g. eiwit per dag (39).

Toch wordt in de leerboeken geadviseerd patienten met chronische encephalopathie langdurig te behandelen met een dieet met 40 g. eiwit per dag (32,63,69,115,142). Ook in het Dijkzigtziekenhuis was het gebruikelijk patienten zo te behandelen.

Besloten werd dus patienten met levercirrhose, die na één of meer perioden van encephalopathie behandeld werden met een eiwitbeperkt dieet, op te nemen op de Balansafdeling ter bestudering van de stikstofbalans. In principe had daarbij een controle groep van gezonden moeten worden onderzocht en een groep vergelijkbare patienten, die nog nooit met een eiwitbeperkt dieet waren behandeld; om praktische redenen heeft dit niet kunnen plaatsvinden. De stikstofbalans werd bepaald op 3 isocalorische dieten met daarin respectievelijk 40, 60, en 80 gram natuurlijk -gemengd, plantaardig en dierlijk- eiwit per dag. Tevens werd onderzocht wat het effect was van het toevoegen van extra vertakte-keten aminozuren aan het natuurlijk eiwit in het dieet. Hiertoe werden op elke eiwitdosering beide typen voeding met elkaar vergeleken wat betreft hun effect op de stikstofbalans en op het klinisch beeld bij de patient.

De resultaten werden beschreven in de hoofdstukken IV en V.

Het bleek dat alle patienten in een negatieve stikstofbalans verkeerden op een dieet met 40 g. eiwit per dag. Dit stemde redelijk overeen met de gegevens uit de literatuur (39,41) en bevestigde dat het door ons tot dan toe gevoerde beleid niet juist geweest was.

Met 60 g. eiwit per dag was vrijwel elke patient in balans.

Op een eiwitdosering van 80 g. per dag werd een gemiddelde stikstofwinst gevonden van 2,77 g. per dag. Dit komt globaal overeen met 17 g. eiwit of 86 g. spier. Bij gezonden vindt men zelden een stikstofretentie van meer dan 1½ g. per dag, hoeveel eiwit men ook in het dieet aanbiedt. Alleen bij acute eiwitbelastingen, bij groeiende kinderen en bij volwassenen die zich herstellen na een periode van eiwitondervoeding (regrowing adult) vindt men een hogere retentie. Dit is een argument om te stellen dat er bij de door ons onderzochte patienten inderdaad eiwitondervoeding heeft bestaan tijdens de behandeling met een 40 g. eiwitdieet.

Ook anderen hebben tijdens stikstofbalansen bij patienten met cirrhose dergelijke hoge stikstofretenties gevonden (112). De patienten gebruikten tijdens een balansonderzoek allen lactulose. Er is aangetoond, dat dit geen effect heeft op de stikstofbalans (134).

Bij de patienten kon bij het begin van het onderzoek geen klinisch manifeste eiwitondervoeding worden vastgesteld, terwijl zij toch gedurende periodes variërend van 2 tot 17 maanden een dieet hadden gebruikt met 40 gram eiwit per dag waarvan nu bleek, dat het onvoldoende was voor de patienten om in stikstof evenwicht te blijven. Een zekere verklaring voor deze discrepantie ontbreekt. Het ligt evenwel voor de hand te veronderstellen, dat er dieetfouten zijn gemaakt en dat de patienten in feite gemiddeld meer eiwit hebben gebruikt dan de hen voorgeschreven 40 gram. Het bleek namelijk, dat de meeste van hen het 40 gram eiwit balans dieet karig vonden en maar net genoeg om de honger te stillen, terwijl dit dieet in opzet toch overeenkwam met het thuis gebruikte dieet.

Uit de stikstofbalansgegevens kon de minimale stikstofbehoefte berekend worden (104). Deze bleek voor deze groep patienten 48 g. eiwit per dag te zijn of 0,75 g. eiwit per kilogram per dag. Berekening ($\bar{x} + 2SD$) leert dat de "veilige" eiwitdosering 58 g. per dag is, of 1,20 g. eiwit per kilogram per dag. Hiermee is bedoeld dat 95% van de individuen van de groep daarop in stikstofevenwicht is.

Ondanks meer dan 100 jaar onderzoek naar de minimale eiwitbehoefte van gezonde volwassenen is deze nog steeds niet goed bekend. Volgens de laatste normen van de WHO/FAO bedraagt de minimale behoefte 0,61 g. eiwit per kilogram per dag en is de veilige eiwitdosering in de voeding 0,75 g. eiwit per kilogram per dag (26). Dit als norm aanhoudend kan dus gezegd worden dat er bij de patienten met levercirrhose een fors verhoogde eiwitbehoefte bestaat. Op basis van gegevens met een geheel andere techniek verkregen (stikstofturnoveronderzoek m.b.v. ^{14}C tyrosine) kwam O'Keefe (65) onlangs tot vrijwel dezelfde conclusie als die welke wij getrokken hebben; hij berekende dat de minimum eiwitbehoefte bij patienten met levercirrhose tussen de 40 en 45 gram per dag is.

Mag men deze verhoogde behoefte nu zien als een gevolg van de leverziekte of zouden er nog andere factoren in het spel kunnen zijn die de behoefte mede bepaald hebben ?

Het is uit stikstofbalansonderzoek bij gezonden bekend dat de mate van stikstofretentie of verlies behalve van het eiwitaanbod in de voeding ook sterk afhankelijk is van het aantal calorieën in het dieet (26,45,46). Door het aantal calorieën uit te breiden, verbetert de balans. Ook voor patienten met levercirrhose is dit aangetoond; Plough beschreef dat de stikstofretentie verbeterde met 1,4-6,5 g. stikstof per extra 1000 calorieën in het dieet (103).

De patienten in ons onderzoek kregen tijdens het 40 g. eiwitdieet gemiddeld 281 niet-eiwitcalorieën per gram stikstof. Volgens de normen die bij het geven van parenterale voeding worden aangelegd, is dit een calorierijke voeding (66). Hierbij mag men aannemen dat de stikstofretentie optimaal is omdat alle benodigde energie uit vet en koolhydraat verkregen kan worden. Het lijkt dus redelijk te veronderstellen dat de stikstofbalans in ons onderzoek op 40 g. eiwit niet veel veranderd zou zijn als de patienten meer calorieën gekregen zouden hebben. Op 80 g. eiwit waren er in de door ons gegeven dieten gemiddeld 130 niet-eiwitcalorieën aanwezig per gram stikstof. Het is voorstelbaar dat de stikstofbalans hier beter zou zijn uitgevallen met meer calorieën in het dieet (103). Mogelijk valt daardoor de door ons uit de balansen berekende minimale eiwitbehoefte iets ongunstiger uit dan met extra toediening van calorieën gevonden zou zijn. Toch lijkt het relevant het gevonden getal te aanvaarden. Immers, de patienten gebruikten een dieet dat met hun eetlust overeenkwam. In de praktijk van het alledaagse leven zouden zij toch niet meer eten dan zij nu gedaan hebben.

Ook de toestand van de lever lijkt van invloed te zijn op de stikstofbalans en de daaruit berekende eiwitbehoefte.

Bij patienten met alcoholische hepatitis is aangetoond dat de stikstofbalans van week tot week verbetert met het herstel van de patient (39).

Onze patienten zijn onderzocht in een stabiele fase van hun leverziekte, zodat het onwaarschijnlijk is dat er bij hen nog fluctuaties op de korte termijn in de eiwitbehoefte zouden optreden. Wel komt uit herhaald balansonderzoek bij 2 patienten de suggestie naar voren dat in de loop van 1 à 2 jaar de minimale stikstofbehoefte toegenomen is. Het is redelijk te veronderstellen dat de minimale stikstofbehoefte afhangt van de ernst van de leverziekte en dat in de loop van de jaren met het voortschrijden van de ziekte de behoefte verandert. Dit punt zou nader onderzocht moeten worden.

In hoofdstuk V wordt beschreven hoe onderzocht is of er verschillen in de stikstofbalans gevonden kunnen worden als resultaat van het geven van extra vertakte-keten aminozuren in aanvulling op het natuurlijk eiwit. Men heeft immers gesteld dat vertakte-keten aminozuren een antikatabool effect hebben (14). In het dierexperiment is aangetoond dat leucine, een van de vertakte-keten aminozuren, de eiwitsynthese in de spier aanzet (10).

Bij vergelijking van de stikstofbalansen op natuurlijk eiwit en op eiwit aangevuld met vertakte-keten aminozuren, werden door ons geen verschillen gevonden, noch op de lage dosering eiwit, noch op een royalere eiwitopname. Daaruit volgt direct dat ook de minimale stikstofbehoefte niet verschilt voor deze 2 typen voeding. Dit betekent dat - als vertakte-keten aminozuren een gunstig effect zouden hebben op portosystemische encephalopathie - dit een direct effect zou moeten zijn op het binnentreden van aminozuren in de hersenen (31) en niet een indirect effect door herstel van anabole condities als resultaat van het geven van deze aminozuren.

De patienten toonden aan het begin van het balansonderzoek geen klinische tekenen van portosystemische encephalopathie. Dit was immers een selectie criterium geweest. Desondanks werden bij alle patienten geringe stoornissen gevonden in het electroencefalogram en de cijferverbindingstest. Deze bevindingen - gestoorde testen bij een ogenschijnlijk niet encephalopathische patient - zijn ook door anderen beschreven. Men spreekt dan veelal van latente encephalopathie (75,109).

In ons onderzoek is niet gebleken dat de patienten meer (latent) encephalopathisch waren op een 40 g. eiwitdieet waarbij de stikstofbalans negatief was. Evenmin verbeterden de tekenen van latente encephalopathie als

de stikstofbalans positief werd. Voor de stelling dat een "katabole toestand", waaronder een negatieve stikstofbalans wordt verstaan, leidt tot encephalopathie (123), hebben wij geen argumenten kunnen vinden.

Opmerkelijk was hoe goed de patienten een dieet met 80 g. eiwit verdroegen, terwijl ze toch in het verleden meerdere malen manifest encephalopathisch waren geweest door eiwitoverbelasting. Mogelijk was de eiwittolerantie verbeterd. Dat dit kan gebeuren, is eerder in de literatuur beschreven door Gabuzda (41). Een verklaring voor dit fenomeen is niet met zekerheid te geven. Men kan zich voorstellen dat dit te maken heeft met een toename van de capaciteit van enzymsystemen die bij de omzetting van aminozuren betrokken zijn. Dit zou kunnen berusten op herstel van de lever, of op aanpassing van enzymsystemen tijdens betere voeding. Zo is bijvoorbeeld aangetoond dat de ureumvormingscapaciteit kan toenemen door de patient met meer aminozuren te belasten (126).

Mogelijk speelt ook de regelmaat waarmee tijdens het balansonderzoek gegeten werd hier een rol. Men kan zich voorstellen, dat eenzelfde hoeveelheid eiwit, regelmatig in porties toegediend, zonder problemen verdragen kan worden en niet tot encephalopathie leidt, terwijl dezelfde hoeveelheid eiwit in een keer genuttigd wel een eiwitoverbelasting voor de stofwisseling inhoudt.

In hoofdstuk V worden ook de klinische effecten beschreven van het oraal gebruik van eiwit waaraan vertakte-keten aminozuren waren toegevoegd. Volgens de valse neurotransmitter-aminozuurtheorie zou van gebruik van dit eiwitproduct verbetering van encephalopathie te verwachten zijn (33). Aangezien, zoals vermeld, manifeste encephalopathie bij onze patienten tijdens het balansonderzoek niet voorgekomen is, valt er over de beïnvloeding hiervan door dit type eiwit niets te zeggen. Wel is duidelijk geworden dat er in de testen die het bestaan van latente encephalopathie toonden, geen enkel effect te zien was. De literatuur over het effect van oraal eiwit, aangevuld met vertakte-keten aminozuren, is verward. Hoewel in een gecontroleerd onderzoek verbetering van psychometrische testen bij patienten met latente encephalopathie door één groep gevonden is (25), hebben anderen bij lichte, doch manifeste chronische encephalopathie, eveneens in een gecontroleerd onderzoek, geen effect van aanvulling van het dieeteiwit met vertakte-keten aminozuren kunnen vaststellen (27).

Teneinde beter geïnformeerd te raken over de stikstofturnover in de spier - een van de plekken waar een groot deel van de eiwitomzet gerealiseerd wordt - is de uitscheiding in de urine van 3-methylhistidine gemeten.

3-Methylhistidine is een aminozuur dat in de spier gevormd wordt en na afbraak van spiereiwit volledig in de urine uitgescheiden wordt, zonder opnieuw in lichaamseiwit te worden ingebouwd (138,139). Recent is duidelijk geworden dat 3-methylhistidine ook uit andere organen dan de spier afkomstig kan zijn (83). Dit maakt de interpretatie van deze metingen onzeker (4,107). De uitscheiding van 3-methylhistidine was bij de door ons onderzochte patienten lager dan bij een eerder onderzochte controlegroep. Ook de 3-methylhistidine - creatinine verhouding was bij de patienten lager dan bij de controles.

Een dergelijk beeld van vermindering van de absolute en relatieve uitscheiding is in de literatuur beschreven bij ondervoede kinderen (91). Het normaliseert zich weer als de voedingstoestand verbetert.

De geringe uitscheiding van 3-methylhistidine kan worden opgevat als steun voor de gedachte dat er bij de patienten een kleiner dan normale spiermassa bestond. Anderen vonden echter bij cirrhotici juist een grotere uitscheiding van 3-methylhistidine (76,143).

Een significante daling in de 3-methylhistidine-uitscheiding zagen wij onder gebruik van eiwit met extra vertakte-keten aminozuren toen de patienten op een 60 g. eiwitdieet in een positieve stikstofbalans waren. Wij nemen aan dat de geringe uitscheiding van 3-methylhistidine op 60 g. eiwit een uiting is van adaptatie aan chronische eiwitondervoeding; met andere woorden een soort bezuiniging. In dat geval zou men verwachten dat er op een 40 g. eiwitdieet nog minder 3-methylhistidine in de urine zou verschijnen. Er bleek toen echter juist een hogere uitscheiding te zijn. Mogelijk moet men dit zien als decompensatie van een adaptatieproces, er is dan netto spieraafbraak. De verandering in de 3-methylhistidine-uitscheiding wordt alleen gevonden op een dieet met extra vertakte-keten aminozuren. Dit kan wellicht betekenen dat met dit type eiwit de spieren beter worden gespaard (10).

Deze bevindingen die een verminderde afbraaksnelheid van spiereiwit suggereren zijn in tegenspraak met de directe metingen van de snelheid van eiwitsynthese en afbraak met behulp van ¹⁵N glycine; daar vonden wij immers bij de patienten een toegenomen snelheid van eiwitsynthese en afbraak gevonden. De door anderen gevonden verhoogde uitscheiding van 3-methylhistidine bij levercirrhose (76,143) past daar veel beter bij. Een verklaring van deze discrepantie ontbreekt.

Tijdens het balansonderzoek is vervolgd hoe de concentraties van de verschillende aminozuren in het plasma ('s ochtends in nuchtere toestand)

veranderden. Volgens de valse neurotransmitter-aminozuurtheorie zou encephalopathie immers ontstaan als gevolg van een verstoring van het aminozuurpatroon (88,123). Herstel van het normale patroon door herstel van een anabole toestand zou nodig zijn voor herstel van de encephalopathie (33). Bij het begin van ons onderzoek was het plasma aminozuurpatroon van de patienten sterk gestoord, in de zin zoals door anderen is beschreven: een verlaging van de concentraties vertakte-keten aminozuren en hoger dan normale concentraties aromatische aminozuren (12,85,110). Toch had geen van deze patienten manifeste encephalopathie. Inmiddels was al uit de literatuur duidelijk geworden dat dit verstoorde aminozuurpatroon steeds gevonden wordt bij levercirrhose, ongeacht of de patient nu encephalopathisch is of niet (12,85). Bij uitbreiden van de hoeveelheid eiwit in de voeding van 40- naar 60 g. werd de stikstofbalans positief maar trad alleen wat betreft tryptofaan een geringe stijging op; de andere aminozuren veranderden niet. Hieruit bleek dat herstel van anabolie niet tot normalisatie van het nuchtere aminozuurpatroon leidde. Bij nog verder verhogen van de dosering eiwit in het dieet trad geen verdere verandering op in het aminozuurpatroon.

Ook werd onderzocht of aanvulling van het natuurlijk eiwit in het dieet met extra vertakte-keten aminozuren tot een verbetering van het plasma aminozuurpatroon zou leiden. Dit zou immers moeten gebeuren als dit type voeding -in het licht van de valse neurotransmitter-aminozuurhypothese- tot herstel van encephalopathie zou leiden. Inderdaad traden er enkele veranderingen op in het aminozuurpatroon; de concentratie van valine steeg en die van tyrosine en tryptofaan daalde. Van een normalisatie van het plasma aminozuurpatroon was geen sprake. Het betreft hier evenwel metingen bij de nuchtere patient, 's ochtends vroeg ongeveer 15 uur na de laatste maaltijd. Het effect van de toegediende aminozuren is dan misschien inmiddels weer verdwenen (30). Mogelijk zou er wel een normalisatie van het amonizuurpatroon gevonden zijn, als de patient kort na de maaltijd zou zijn onderzocht.

Toen bleek dat patienten met levercirrhose zo'n hoge minimale stikstofbehoefte hadden, is besloten de oorzaak van deze hoge behoefte verder te onderzoeken door de snelheid van eiwitomzet te meten.

Bij de stikstofbalans wordt het lichaam beschouwd als één compartiment. Men meet wat het lichaam in gaat en wat er uit komt; over de processen die zich tegelijkertijd binnen het lichaam afspelen wordt geen informatie verkregen. Toch weet men dat er in het lichaam voortdurend eiwitsynthese plaatsvindt en

dat daar dan weer eiwitafbraak tegenover staat. Bij een gezonde volwassene moeten deze twee processen op de lange termijn met elkaar in evenwicht zijn. De orde van grootte van deze eiwitsynthese en -afbraak is slechts bij benadering bekend.

De vraag die wij ons gesteld hebben, was, of de hoge stikstofbehoefte van cirrhotici verklaard kan worden uit een verstoord evenwicht tussen eiwitaanmaak en -afbraak. Is het zo dat de eiwitafbraak normaal verloopt, maar dat daar een onvoldoende eiwitsynthese tegenover staat ? Of is de eiwitsynthese normaal maar wordt er per tijdseenheid te veel eiwit afgebroken? En wat gebeurt er bij patienten als men ze een eiwitarm dieet voorschrijft? Neemt de afbraak dan verder toe ? Of schiet de synthese dan nog meer tekort?

In de literatuur is een methode beschreven die het mogelijk maakt de snelheid van eiwitsynthese en afbraak per tijdseenheid te meten (102). Bij deze methode wordt het lichaam geacht te zijn opgebouwd uit 2 compartimenten, een eiwitpool en een aminozuurpool. Men meet nu de doorstroming van de aminozuurpool ("flux"). Uit deze meetwaarde, uit de berekende eiwitopname tijdens het onderzoek en uit het in die periode gemeten verlies in de urine, kan men de snelheid van eiwitsynthese en eiwitafbraak berekenen. Besloten werd deze methode te gaan toepassen en hiermee patienten en gezonde controles te onderzoeken en met elkaar te vergelijken. De bevindingen staan beschreven in hoofdstuk VI.

Bij de meting van de stikstof turnover bij de gezonde controles tijdens gebruik van een standaard dieet vonden wij dat de snelheid van eiwitsynthese gemiddeld 216 mg. stikstof per kilo per 9 uur bedroeg en de afbraak 173 mg. per kilo per 9 uur. Dit komt voor een volwassene van 70 kg. overeen met een synthese van 94 g. eiwit per 9 uur en een afbraak van 76 g. eiwit per 9 uur. In de loop van de dag is de eiwitbalans dus positief en bouwt men netto een hoeveelheid eiwit op. Anderen kwamen bij gebruik van deze technieken tot dezelfde bevindingen (47,130).

Wanneer men de controle personen een eiwitarm dieet aanbiedt, dan ziet men dat de snelheid van eiwitsynthese gaat dalen, terwijl de eiwitafbraak constant blijft. De regulatie van de eiwitbalans lijkt dus vooral via modulatie van de synthese te verlopen. Soortgelijke bevindingen werden beschreven door Rennie en door Clague en anderen (16,106).

Laat men de proefpersoon nu vasten door de meting tijdens de nachturen uit te voeren dan blijkt dat de snelheid van eiwitsynthese verder afneemt terwijl

onder die omstandigheden de afbraaksnelheid gaat stijgen. De afbraaksnelheid is groter dan de synthesesnelheid zodat er dan netto eiwitafbraak optreedt (130). Deze bevindingen verschillen enigszins met wat er door anderen gevonden werd. Zo vond Garlick ook dat de eiwitsynthesesnelheid tijdens vasten tijdens de nacht afnam maar hij beschreef dat de afbraaksnelheid constant bleef (43).

Het beeld dat wij nu kregen was dat bij gezonde volwassenen overdag tijdens voeden de eiwitsynthese groter is dan de -afbraak zodat er netto eiwit aangemaakt wordt, terwijl 's nachts de snelheid van eiwitsynthese daalt onder die van de afbraak zodat er netto eiwitafbraak plaatsvindt.

Wanneer men nu de patienten vergelijkt met de controles dan blijkt in de eerste plaats dat de spreiding bij hen groter is dan bij controles. Waarschijnlijk hangen deze grotere interindividuele verschillen samen met verschillen in de ernst van de ziekte. Voorts komt naar voren dat bij de patienten hogere waarden gevonden worden voor de stikstoflux en voor de snelheid van eiwitsynthese en -afbraak. Terwijl bij de controles een synthesesnelheid van 94 gram eiwit per 9 uur gemeten werd, is dit voor de patienten gemiddeld 137 gram eiwit per 9 uur. Daar staat een afbraaksnelheid bij de patienten tegenover van 103 gram eiwit per 9 uur, terwijl dit bij de controles 76 gram per 9 uur bedroeg. O'Keefe beschreef eveneens bij patienten met levercirrhose een hogere eiwitsynthese- en -afbraaksnelheid (64,65).

Deze bevindingen waren opmerkelijk. Met name de hogere eiwitsynthesesnelheid hadden wij aanvankelijk niet verwacht, integendeel. Bij eiwitbeperking in het dieet traden er bij de patienten geen significante veranderingen aan het licht. Dit is een volgend punt waarin deze groep zich van de normale controles onderscheidt. Bij de contrôles was immers gevonden dat de synthesesnelheid tijdens eiwitbeperking afnam. De patient met levercirrhose lijkt nauwelijks in staat te zijn op zijn stikstofomzet te bezuinigen wanneer het aanbod van stikstof in de voeding afneemt. Dit laatste wordt nog duidelijker tijdens volledig vasten. Zelfs onder die omstandigheden was de afname van de eiwitsynthese alleen bij gepaard testen waarneembaar.

Hoe moet men deze bevindingen verklaren ?

De interpretatie voor de gevonden verschillen zou als volgt kunnen zijn. Men kan zich drie mogelijkheden indenken.

In de eerste plaats zou het kunnen zijn dat de synthese en de afbraak beide toegenomen zijn, los van elkaar, door verschillende mechanismen. Te ontkennen valt deze mogelijkheid niet zonder meer. Toch lijkt ze onwaarschijnlijk. Het

is immers niet goed voorstelbaar hoe bij een dergelijke ontregeling de lichaamssamenstelling op de langere duur gelijk zou blijven; wij weten immers dat patienten met levercirrhose soms jarenlang in dezelfde voedingstoestand kunnen blijven.

Een tweede mogelijkheid is dat de snelheid van eiwitsynthese door enigerlei oorzaak toegenomen is terwijl de afbraaksnelheid vervolgens bijgestuurd wordt om evenwicht te handhaven.

Doch ook het omgekeerde is denkbaar en dit vormt de derde mogelijkheid. De snelheid van eiwitafbraak is dan toegenomen en als compensatie daarvoor slaagt het lichaam er in ook de synthesesnelheid op te voeren.

Er is maar weinig bekend over de regulatie van de totale lichaams eiwitsynthese en -afbraaksnelheid, zoals die in dit onderzoek zijn gemeten (105). Een van de factoren waarvan men aanneemt dat ze de eiwit turnover helpt reguleren is de beschikbaarheid van eiwit of aminozuren (105). Kan hieruit het verschil tussen patienten en controles verklaard worden? Het zou inderdaad zo kunnen zijn dat de hoge eiwitsynthesesnelheid overdag hiermee samenhangt. Er is immers gevonden dat overdag tijdens voeden het alpha-aminostikstof bij de patienten toenam, terwijl dit bij de controles stabiel bleef (tabel VI-1). Voor de patienten waren er dus inderdaad meer aminozuren voor de perifere organen beschikbaar, wat de eiwitopbouw daar zou kunnen aanzetten. Overigens kan dit niet verklaren waarom ook 's nachts bij de patienten de synthese hoger was; toen was er immers geen verschil met de controles in alpha-aminostikstof. Het lijkt dus onwaarschijnlijk dat hier een verklaring te vinden is.

Meer voor de hand ligt te denken dat het verschil tussen beide groepen gelegen is in hormonale sturing van de synthese en afbraak. Het is bekend dat bij patienten met levercirrhose een hoog plasma insulinegehalte gemeten kan worden. Insuline wordt gezien als een anabool hormoon; men zou zich voor kunnen stellen dat het ook de totale lichaamseiwitsynthese bevordert. Overigens komt er bij patienten met cirrhose vaak insulineresistentie voor, zodat het niet zeker is dat er een biologisch effect is van insuline evenredig aan de hoogte van de plasmaspiegel (77). De eiwitafbraak zou gestuurd kunnen worden door glucagon. Ook dit hormoon wordt bij patienten met levercirrhose in verhoogde spiegels in het plasma gevonden.

Tenslotte zou het kunnen zijn dat de hoge snelheid van eiwitomzet een gevolg is van een combinatie van twee factoren: eiwitondervoeding en een adequaat dieet. Door Golden (51) is beschreven dat ondervoede kinderen tijdens herstel

van deze ondervoeding een grote snelheid van eiwitomzet hadden, groter dan die was voor het begin van de behandeling en groter dan gevonden werd na herstel van een normale voedingstoestand.

Eén van de doelstellingen van het eiwit turnoveronderzoek was het vinden van een verklaring voor de hoge minimale eiwitbehoefte die bij de patienten met levercirrhose gevonden was. Kunnen wij die vraag beantwoorden met de thans voorhanden gegevens ? Dit kan slechts ten dele. De reden hiervoor is dat er zulke strakke condities moesten worden gekozen om het turnoveronderzoek uit te kunnen voeren dat daardoor situaties ontstonden die in het dagelijks leven niet reëel zijn; niemand zal bijvoorbeeld elk uur een gestandaardiseerde maaltijd gebruiken. Waarschijnlijk treedt er direct in aansluiting aan een conventionele maaltijd een situatie in waarbij de snelheid van toevoer van nutriënten groter is dan die tijdens onze proeven. De persoon bevindt zich dan ten opzichte van de hier als "gevoede toestand" beschreven situatie in een "supergevoede" toestand. Er treedt in deze fase netto eiwitsynthese op en de stikstofbalans is positief.

Enkele uren na de maaltijd is men tussen de gevoede toestand en de vastende toestand in. Naar mag worden aangenomen passen eiwitsynthese en -afbraak zich aan deze veranderingen geleidelijk aan. De synthesesnelheid verandert voortdurend, terwijl de afbraak, althans overdag, redelijk stabiel blijft. Onder deze omstandigheden zal er vrijwel stikstofevenwicht bestaan.

In de nachturen daarentegen eet de persoon langere tijd niet; de situatie die dan ontstaat is waarschijnlijk gelijk aan die welke in ons onderzoek gedurende de nachturen is gevonden. Er treedt netto eiwitaafbraak op en de stikstofbalans is negatief.

De uiteindelijke stikstofbalans over 24 uur gemeten is dan dus afhankelijk van het aantal uren dat de persoon in de gevoede toestand heeft doorgebracht en het aantal uren dat hij gevestigd heeft. Over deze tijdswaarnemingen zou men moeten beschikken als men uit de turnovergegevens de 24 uren stikstofbalans wil afleiden.

Wanneer men de stikstofwinst wil bepalen die de proefpersoon behaalt tijdens de gevoede toestand of het verlies wil berekenen dat geleden wordt tijdens het vasten, dan kan men de eiwitaafbraak aftrekken van de eiwitsynthese. Er ontstaat dan een eiwitbalans uitgedrukt in dezelfde eenheden waarin synthese en afbraak worden uitgedrukt, grammen stikstof per 9 uur. Het blijkt nu dat de patienten met levercirrhose een betere - dat wil zeggen meer positieve - balans hebben dan de controlepersonen wanneer men dat onderzoekt in de

gevoede toestand. Vastend worden er geen significante verschillen gevonden. Dat wil zeggen beide groepen zijn in de nacht in de vastende toestand in een negatieve balans, maar de mate waarin die balans negatief is, is niet verschillend.

Heeft dit enige relevantie voor het begrijpen van de 24-uurs stikstofbalans? Mogelijk wel. Immers, wanneer de patient met levercirrhose een even groot aantal uren als de controle personen in de gevoede toestand zou verkeren en een even groot aantal uren zou vasten, dan zou de patient over 24 uur berekend toch een betere balans moeten hebben dan de controle personen. Het tegendeel blijkt evenwel het geval te zijn. Dit moet betekenen dat de patient met levercirrhose een groter aantal uren in de biologisch vastende toestand doorbrengt. Aannemende dat de controle persoon en de patient een gelijk aantal maaltijden per dag gebruiken, gaat de bovenstaande hypothese alleen op als de patient met levercirrhose na een maaltijd sneller dan de controle in de vastende toestand geraakt. Voorstelbaar is dat dit zou samenhangen met een verminderde reserve aan "brandstof", dat wil zeggen glucose. De lever bij cirrhotici is veelal kleiner dan bij gezonden en ook de spiermassa is vaak afgenomen. Dit betekent, dat de glucogeen voorraden kleiner zijn bij de patient. Hierdoor, of door een minder gemakkelijke mobilisatie van het in het glycogeen opgeslagen glucose, levert de glycogenolyse de patient onvoldoende op (90). Hij zal dan eerder dan de controlepersoon op gluconeogenese moet overschakelen. Door Owen et al. werd aangetoond, dat de processen van metabole adaptatie aan hongeren bij patienten met levercirrhose na een nacht vasten lijken op die welke bij gezonden gevonden worden na een langduriger periode van vasten (95,96).

Door langer in de vastende toestand te verkeren en dus meer op gluconeogenese aangewezen te zijn, teert de patient meer dan de controle in op zijn eiwitmassa. Tijdens het voeden moet dit dan weer ingehaald worden; dit zou de grotere stikstofopname tijdens de gevoede toestand verklaren. Over 24 uur gezien wint de patient er toch niets bij; de extra stikstofretentie die er tijdens voeden gerealiseerd wordt, wordt weer verloren tijdens het vasten. Wellicht verklaart dit ook de lage "net protein utilisation" die wij bij deze patientengroep vonden (137).

Bij het klassieke stikstofbalansonderzoek is gevonden dat de stikstofbalans beter is wanneer de patient 4 in plaats van 3 maaltijden per dag gebruikt (tabel IV-14). Dit past goed in het bovenbeschreven concept. Immers, door de

voeding meer over de dag te verdelen, verkort men de tijd dat de patient in de vastende toestand is.

Samenvattend kan men nu zeggen dat er aanzienlijke verstoringen zijn gevonden in de stikstofhuishouding van patienten met levercirrhose. De eiwitbehoefte om in stikstofevenwicht te blijven, is toegenomen. De oorzaak hiervan lijkt niet zo zeer gelegen te zijn in een verstoord evenwicht tussen eiwitopbouw en eiwitafbraak in de gevoede toestand of tijdens vasten. Eerder lijkt het probleem te zijn dat de patient met levercirrhose in vergelijking met gezonden meer tijd in de vastende toestand doorbrengt.

HOOFDSTUK VIII

SAMENVATTING

In dit proefschrift werd een onderzoek beschreven naar enkele aspecten van de eiwitstofwisseling bij patienten met levercirrhose. De aanleiding voor dit onderzoek was de klinische waarneming dat eiwitondervoeding bij patienten met levercirrhose frequent voorkomt. Dat deze ondervoedingstoestand het ziektebeloop ongunstig beïnvloedt, is alleszins waarschijnlijk. Patienten met levercirrhose moet vaak eiwitbeperking in het dieet worden geadviseerd ter bestrijding van encephalopathie. Dit maakt de problemen van eiwitondervoeding alleen maar groter. Een andere reden om de eiwitstofwisseling te bestuderen, was de hypothese dat encephalopathie gezien moest worden als een gevolg van katabolisme in het lichaam. Dit katabolisme zou door verstoring van het plasma aminozuurpatroon uiteindelijk leiden tot de vorming van valse neurotransmitters in cerebro; deze zouden voor de encephalopathie verantwoordelijk zijn. Derhalve zou zorg voor anabole condities preventief en therapeutisch van belang zijn. Bovendien stelde de valse neurotransmitter-aminozuurtheorie dat encephalopathie bestreden kon worden door de patient te behandelen met eiwit waaraan extra vertakteketen aminozuren waren toegevoegd. De vraag rees of patienten die wegens encephalopathie een eiwitbeperkt dieet hadden gekregen, daardoor in een negatieve stikstofbalans gebracht werden.

In hoofdstuk IV werd beschreven hoe bij 8 patienten daarom stikstofbalansonderzoek is gedaan. Hieruit kwam naar voren dat deze groep patienten bij een eiwitopname, zoals die gebruikelijk was voor de bestrijding van encephalopathie, in een negatieve stikstofbalans waren. Er konden overigens geen argumenten worden gevonden dat deze negatieve stikstofbalans de encephalopathie erger maakte. Ook bleek dat de patienten in hun cerebrale

functioneren niet verbeterden wanneer ze meer eiwit kregen. Wel nam het welbevinden toe en voelde men zich fitter op een royaler dieet. Bovendien bleek een eiwitrijker dieet onder deze omstandigheden goed verdragen te worden. Uit het onderzoek werd geconcludeerd dat de groep als geheel in stikstofevenwicht kwamen met gemiddeld 48 g. eiwit per dag in het dieet. Rekening houdend met individuele verschillen moest 58 g. eiwit per dag of 1,2 g. eiwit per kilogram per dag als een adequate opname beschouwd worden.

Ondanks ruim 100 jaar onderzoek is nog steeds niet goed bekend wat de minimale eiwitbehoefte voor een gezonde volwassene is. Volgens de laatste normen van de WHO/FAO wordt 0,61 g. eiwit per kg. per dag thans als een veilige dosering beschouwd. De minimale stikstofbehoefte in deze groep patiënten bleek dus hoog te zijn in vergelijking met gezonden.

In hoofdstuk V werd beschreven hoe is onderzocht of toevoegen van extra vertakte-keten aminozuren aan het dieet tot verbetering van encephalopathie of tot een betere stikstofbalans leidde. Aangezien tijdens het onderzoek manifeste encephalopathie noch ontstond, noch verdween, kon niet beoordeeld worden of verrijking van het dieet met vertakte-keten aminozuren tot verbetering van encephalopathie leidde. Evenmin werd er een verbetering van de stikstofbalans gevonden bij het gebruik van een voeding waarin een deel van het eiwit door vertakte-keten aminozuren was vervangen. Daarom veranderde op dit dieet de minimale stikstofbehoefte ook niet. Er werd wel een klein verschil gevonden in de uitscheiding van 3-methylhistidine, een specifieke indicator voor afbraak van contractiele eiwitten. Dit zou er op kunnen wijzen dat de stofwisseling van deze eiwitten enigszins verbeterde op deze speciale voeding.

De behoefte ontstond aan een test die minder tijdrovend was dan de klassieke stikstofbalans, zodat meer patiënten onderzocht zouden kunnen worden en bovendien de mogelijkheid zou ontstaan patiënten met gezonde controlepersonen te vergelijken. Bovendien bestond de wens inzicht te verkrijgen in de oorzaak van de gebleken hoge stikstofbehoefte van cirrhosepatiënten. Gekozen werd voor het bestuderen van de stikstofflux, de synthesesnelheid van eiwit en de eiwitaafbraaksnelheid met behulp van aminozuren die met een stabiel niet radioactief isotoop waren gemerkt. Van de verschillende in de literatuur beschreven methoden voor het onderzoek van de eiwitstofwisseling is dit de enige die zonder stralingsgevaar is en dus bij herhaling bij een patient kan

worden uitgevoerd. Bovendien is de methode eenvoudig genoeg om onder klinische omstandigheden gebruikt te worden.

In hoofdstuk VI werd beschreven hoe deze methode werd toegepast om de stikstofturnover van patienten met levercirrhose en van gezonde controlepersonen te onderzoeken en te vergelijken. De uitkomsten waren verrassend. Bij patienten met levercirrhose werd, in tegenstelling tot de verwachtingen, een hogere in plaats van een lagere synthesesnelheid van eiwit gevonden. De afbraaksnelheid was eveneens verhoogd. Zelfs tijdens vasten bleek de eiwitsynthese van cirrhotici hoger te zijn dan die van controlepersonen. Waarom deze eiwitomzet zo is toegenomen, is niet duidelijk. Een andere interessante waarneming was dat bij gezonden tijdens eiwitbeperking, zowel de snelheid van eiwitafbraak als die van eiwitsynthese afneemt. Deze "regulatie" ontbreekt bij cirrhosepatienten. Blijkbaar kan de cirrhoticus bij schaarste aan eiwit minder goed bezuinigen dan een gezonde. Het was niet eenvoudig de op een eiwitarm dieet negatieve "klassieke" stikstofbalans te verklaren uit de gegevens van het eiwit turnoveronderzoek. Men zou de constructie kunnen maken dat patienten met levercirrhose na de maaltijd sneller dan gezonden van de gevoede in de vastende toestand overgaan, zodat zij een groter gedeelte van het etmaal in de vastende toestand doorbrengen. Dit zou veroorzaakt kunnen worden doordat de energievoorraden eerder zijn uitgeput en de patient met levercirrhose voor de glucose homeostase minder op glycogenolyse kan vertrouwen maar meer op gluconeogenese is aangewezen. De consequentie van deze redenering is dat het voor de patienten nuttig zou zijn frequenter te eten teneinde de tijd doorgebracht in de gevoede toestand langer te doen zijn. Inderdaad liet een beperkt aantal stikstofbalansen zien dat de balans verbeterde wanneer de patienten 4 in plaats van 3 maaltijden per dag gebruikten. Het bestuderen van de tijdsrelaties tussen voeden en vasten lijkt de richting te zijn waarin verder onderzoek van de stikstofstofwisseling van patienten met levercirrhose zou moeten worden voortgezet.

SUMMARY

This thesis describes a study of protein metabolism in patients with cirrhosis of the liver.

The incentive to start this study was the clinical observation that protein malnutrition is often found in cirrhotic patients. It is likely that this malnutrition will influence the outcome of the disease unfavourably. However, when the disease is complicated by portosystemic encephalopathy, dietary protein has to be restricted. This only serves to make the malnutrition problem worse.

The second reason to start this study of protein metabolism was the hypothesis that portosystemic encephalopathy could be considered a consequence of protein catabolism in the body. A catabolic state would result in a disturbance of the plasma aminoacid pattern. This would lead to the formation in the brain of false neurotransmitters. These were considered to be the cause of the encephalopathy. Promotion of anabolic conditions would therefore be essential to prevent and treat encephalopathy. In addition it was proposed that encephalopathy should be treated with intravenous aminoacid solutions enriched with branched chain aminoacids.

A study was performed to find whether patients with cirrhosis of the liver on a protein restricted diet were in a catabolic state as a result of the diet. A second question was whether this metabolic state indeed had an influence on their encephalopathy.

In chapter IV a description is given of nitrogen balance studies in 8 patients with cirrhosis of the liver. This group of patients was found to be in a negative nitrogen balance on the 40 gram protein diet that was usually given to treat encephalopathy. No evidence was found that this negative nitrogen balance caused or contributed to encephalopathy, nor was there any improvement in cerebral function when the nitrogen balance became positive on diets with 60- or 80 gram protein. The patient however felt better and stronger on a more liberal diet. Even a 80 gram protein diet was well tolerated under the circumstances of the study.

It was calculated that this group of patients achieved a positive nitrogen balance on a mean protein intake of 48 gram per day. The safe level of protein intake to stay in nitrogen equilibrium was therefore 58 grams of protein per day or 1,2 gram of protein per kilogram per day (mean + 2SD).

According to the latest data of WHO/FAO 0,61 gram of protein per kilogram per day is now considered a safe level of protein intake for a healthy adult. Therefore the minimum protein requirement in this group of patients with cirrhosis of the liver is high in comparison with healthy controls.

In the same group of patients the effect was studied of addition of extra branched chain aminoacids to the natural protein of the diet. Chapter V describes the effects of this type of protein on nitrogen metabolism. As far as nitrogen balance is concerned no effect of this type of protein was found. The calculated minimum protein requirement was thus identical on both types of diet. There was a small difference in the excretion of 3-methylhistidine, considered to be a specific indicator of contractile protein breakdown. This suggested that the metabolism of muscle protein improved with extra branched chain amino acids in the diet.

As there was no clinical encephalopathy during the study, a comparison of the effects on the level of portosystemic encephalopathy was impossible. Latent encephalopathy was not influenced by this type of protein.

In the second part of the study an attempt has been made to study the factors responsible for the high minimum protein requirement in patients with cirrhosis of the liver. This was done by studying the nitrogen flux through the aminoacid pool by labeling this pool with a single dose of ^{15}N -glycine and by monitoring the cumulative excretion of ^{15}N in the end-products ammonia and urea in the urine. From this flux, the nitrogen intake and the urinary nitrogen losses, rates of protein synthesis and protein breakdown could be computed.

In Chapter VI the results were described of these protein turnover measurements in patients with cirrhosis of the liver and in healthy controls. Surprisingly in patients with cirrhosis a higher instead of a lower rate of protein synthesis was found. The rate of protein breakdown was also increased. Even during complete fasting the rate of protein synthesis in cirrhotics was higher than in controls. Furthermore it became evident that in controls the rate of protein synthesis and breakdown declined during protein restriction. This type of regulation was not found in cirrhotics. Evidently

their adaptation to protein restriction was not as efficient as it was in healthy controls.

From these data on protein turnover it was not clear why the classical nitrogen balance was found to be negative on a protein restricted diet. The reason could be that after a meal cirrhotic patients change faster from the fed into the fasted state than do the controls. This could be caused by failing glycogen supplies, forcing the cirrhotic patients to rely on gluconeogenesis for glucose homeostasis soon after a meal. They would thus spend a greater deal of their time in the fasting state.

Patients should then try to eat more frequently in order to prolong the fed state. Indeed we found that the nitrogen balance improved when the patients ate four instead of three meals a day.

Further studies on the rate of transition from the fed into the fasted state in cirrhotics are needed to improve our understanding of the increased nitrogen requirements of this disease.

HOOFDSTUK IX

ADDENDUM

In dit hoofdstuk zijn een aantal tabellen opgenomen met meetresultaten van het verrichte onderzoek.

Deze tabellen vormen een aanvulling op de resultaten beschreven in de hoofdstukken IV, V en VI.

De resultaten worden besproken in hoofdstuk VII.

Tabel IX-1.

Balans 1; man, 61 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}	CB
1	3,51	3,48	0,5	7,49	6,4	-1,09		
2	3,12			7,10		-0,70		
3	1,51			5,49		+0,91	-0,01	
4	1,77			5,75		+0,65		
5	2,26			6,24		+0,16		-0,07
6	3,09	3,49	0,5	7,08	6,4	-0,68		
7	3,07			7,06		-0,66		
8	2,61			6,60		-0,20	-0,49	
9	2,07			6,06		+0,34		
10	3,68			7,67		-1,27		-2,54
11	4,17	4,63	0,5	9,30	9,6	+0,30		
12	4,56			9,69		-0,09		
13	4,23			9,36		+0,24	-0,40	
14	5,81			10,94		-1,34		
15	5,57			10,70		-1,10		-4,53
16	5,93	3,31	0,5	9,74	9,6	-0,14		
17	5,64			9,45		+0,15		
18	5,11			8,92		+0,68	+0,49	
19	4,71			8,52		+1,08		
20	5,09			8,90		+0,70		-2,06
21	5,44	4,03	0,5	9,97	12,8	+2,83		
22	5,88			10,41		+2,39		
23	5,05			9,58		+3,22	+2,56	
24	6,27			10,80		+2,00		
25	5,89			10,42		+2,38		+10,76
26	5,65	3,49	0,5	9,64	12,8	+3,16		
27	5,43			9,42		+3,38		
28	5,62			9,61		+3,19	+3,05	
29	5,46			9,45		+3,35		
30	6,65			10,64		+2,16		+26,00

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

 \bar{B} = stikstofbalans.

B = gemiddelde balans over 5 dagen.

CB = cumulatieve balans.

Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B en \bar{B}) of per verstreken periode (CB).

Tabel IX-2.

Balans 2; man, 49 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}	CB
1	4,65	2,04	0,5	7,19	6,4	-0,79		
2	5,26			7,80		-1,40		
3	4,26			6,80		-0,40	-1,32	
4	6,24			8,78		-2,38		
5	5,50			8,04		-1,64		-6,61
6	4,41	1,96	0,5	6,87	6,4	-0,47		
7	-----			-----		-----		
8	2,37			4,83		+1,57	-0,34	
9	4,97			7,43		-1,03		
10	5,38			7,84		-1,44		-7,98
11	5,02	1,94	0,5	7,46	9,6	+2,14		
12	4,74			7,18		+2,42		
13	5,51			7,95		+1,65	+1,95	
14	5,29			7,73		+1,87		
15	5,51			7,95		+1,65		+1,75
16	5,32	1,68	0,5	7,50	9,6	+2,10		
17	5,17			7,35		+2,25		
18	5,05			7,23		+2,37	+2,13	
19	5,22			7,40		+2,20		
20	5,67			7,85		+1,75		+12,42
21	5,80	2,37	0,5	8,67	12,8	+4,13		
22	6,16			9,03		+3,77		
23	6,50			9,37		+3,43	+3,48	
24	6,49			9,36		+3,44		
25	7,29			10,16		+2,64		+29,83
26	6,75	1,81	0,5	9,06	12,8	+3,74		
27	7,28			9,59		+3,21		
28	8,09			10,40		+2,40	+2,81	
29	8,52			10,83		+1,97		
30	7,78			10,09		+2,71		+43,86

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofname met de voeding.

B = stikstofbalans.

 \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.

CB = cumulatieve balans.

Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B en \bar{B}) of per verstreken periode (CB).

Tabel IX-3.

Balans 3; vrouw, 52 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}	CB
1	4,50	1,23	0,5	6,23	6,4	+0,17		
2	4,50			6,23		+0,17		
3	4,46			6,19		+0,21	+0,05	
4	4,38			6,11		+0,29		
5	5,25			6,98		-0,58		+0,26
6	5,18	1,23	0,5	6,91	6,4	-0,51		
7	5,00			6,73		-0,33		
8	5,02			6,75		-0,35	-0,30	
9	4,60			6,33		+0,07		
10	5,07			6,80		-0,40		-1,26
11	5,32	1,23	0,5	7,05	9,6	+2,55		
12	5,43			7,16		+2,44		
13	5,38			7,11		+2,49	+2,40	
14	5,15			6,88		+2,72		
15	6,07			7,80		+1,80		+10,74
16	6,47	1,43	0,5	8,40	9,6	+1,20		
17	6,94			8,87		+0,73		
18	6,75			8,68		+0,92	+0,95	
19	6,67			8,60		+1,00		
20	6,75			8,68		+0,92		+15,51
21	6,63	1,32	0,5	8,45	12,8	+4,35		
22	7,50			9,32		+3,48		
23	7,90			9,72		+3,08	+3,52	
24	7,69			9,51		+3,29		
25	7,60			9,42		+3,38		+33,09
26	8,52	1,89	0,5	10,91	12,8	+1,89		
27	5,35			7,74		+5,06		
28	8,41			10,80		+2,00	+2,67	
29	8,38			10,77		+2,03		
30	8,05			10,44		+2,36		+46,43

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

 \bar{B} = stikstofbalans. \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.

CB = cumulatieve balans.

Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B en \bar{B}) of per verstreken periode (CB).

Tabel IX-4.

Balans 4; vrouw, 42 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}	CB
1	5,4	2,42	0,5	8,32	6,4	-1,92		
2	4,4			7,32		-0,92		
3	3,5			6,42		-0,02	-0,86	
4	4,6			7,52		-1,12		
5	3,8			6,72		-0,32		-4,30
6	5,1	1,99	0,5	7,59	6,4	-1,19		
7	5,0			7,49		-1,09		
8	5,0			7,49		-1,09	-0,65	
9	3,2			5,69		+0,71		
10	4,5			6,99		-0,59		-7,55
11	4,6	2,42	0,5	7,52	9,6	+2,08		
12	4,7			7,62		+1,98		
13	4,1			7,02		+2,58	+1,64	
14	5,6			8,52		+1,08		
15	6,2			9,12		+0,48		+0,65
16	6,0	2,55	0,5	9,05	9,6	+0,55		
17	6,4			9,45		+0,15		
18	6,0			9,05		+0,55	+0,15	
19	6,6			9,65		-0,05		
20	7,0			10,05		-0,45		+1,40
21	6,5	2,93	0,5	9,93	12,8	+2,87		
22	5,9			9,33		+3,47		
23	9,0			12,43		+0,37	+2,59	
24	7,8			11,23		+1,57		
25	4,7			8,13		+4,67		+14,35
26	8,9	2,51	0,5	11,91	12,8	+0,89		
27	7,2			10,21		+2,59		
28	9,6			12,61		+0,19	+0,87	
29	9,1			12,11		+0,69		
30	9,8			12,81		-0,01		+18,70

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

B = stikstofbalans.

 \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.

CB = cumulatieve balans.

Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B en \bar{B}) of per verstreken periode (CB).

Tabel IX-5.

Balans 5; man, 52 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}	CB
1	4,42	1,80	0,5	6,72	6,4	-0,32		
2	5,22			7,52		-1,12		
3	4,98			7,28		-0,88	-0,95	
4	5,31			7,61		-1,21		
5	5,33			7,63		-1,23		-4,76
6	4,50	2,15	0,5	7,15	6,4	-0,75		
7	4,68			7,33		-0,93		
8	5,75			8,40		-2,00	-1,07	
9	4,93			7,58		-1,18		
10	4,23			6,88		-0,48		-10,10
11	5,54	1,92	0,5	7,96	9,6	+1,64		
12	4,94			7,36		+2,24		
13	5,17			7,59		+2,01	+1,70	
14	3,87			6,29		+3,31		
15	7,90			10,32		-0,72		-1,62
16	6,04	2,23	0,5	8,77	9,6	+0,83		
17	6,94			9,67		-0,07		
18	7,16			9,89		-0,29	+0,41	
19	5,23			7,96		+1,64		
20	6,94			9,67		-0,07		+0,42
21	7,54	1,80	0,5	9,84	12,8	+2,96		
22	8,13			10,43		+2,37		
23	8,08			10,38		+2,42	+2,20	
24	9,44			11,74		+1,06		
25	8,33			10,63		+2,17		+11,40
26	5,02	1,28	0,5	6,80	12,8	+6,00		
27	9,14			10,92		+1,88		
28	11,76			13,54		-0,74	+2,34	
29	8,64			10,42		+2,38		
30	8,85			10,63		+2,17		+23,09

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

B = stikstofbalans.

 \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.

CB = cumulatieve balans.

Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B en \bar{B}) of per verstreken periode (CB).

Tabel IX-6.

Balans 6; vrouw, 50 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}	CB
1	5,13	1,83	0,5	7,46	6,4	-1,06		
2	4,56			6,89		-0,49		
3	4,88			7,21		-0,81	-0,71	
4	4,70			7,03		-0,63		
5	4,64			6,97		-0,57		-3,56
6	4,32	1,78	0,5	6,60	6,4	-0,20		
7	4,31			6,59		-0,19		
8	4,07			6,35		+0,05	+0,16	
9	3,33			5,61		+0,79		
10	3,78			6,06		+0,34		-2,77
11	3,47	1,34	0,5	5,31	9,6	+4,29		
12	5,66			7,50		+2,10		
13	5,44			7,28		+2,32	+2,38	
14	6,56			8,40		+1,20		
15	5,78			7,62		+1,98		+9,12
16	5,00	1,84	0,5	7,34	9,6	+2,26		
17	4,82			7,16		+2,44		
18	5,82			8,16		+1,44	+1,78	
19	5,31			7,65		+1,95		
20	6,46			8,80		+0,80		+18,01
21	7,26	1,48	0,5	9,24	12,8	+3,56		
22	6,34			8,32		+4,48		
23	6,89			8,87		+3,93	+3,63	
24	7,55			9,53		+3,27		
25	7,90			9,88		+2,92		+36,17
26	7,48	1,66	0,5	9,64	12,8	+3,16		
27	7,81			9,97		+2,83		
28	7,47			9,63		+3,17	+3,32	
29	6,51			8,66		+4,14		
30	7,35			9,51		+3,29		+52,76

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

B = stikstofbalans.

 \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.

CB = cumulatieve balans.

Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B en \bar{B}) of per verstreken periode (CB).

Tabel IX-7.

Balans 7; vrouw, 73 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}	CB
1	5,64	2,17	0,5	8,31	6,4	-1,91		
2	5,52			8,19		-1,79		
3	5,02			7,69		-1,29	-1,34	
4	4,22			6,89		-0,49		
5	4,93			7,60		-1,20		-6,68
6	3,86	2,17	0,5	6,53	6,4	-0,13		
7	4,62			7,29		-0,89		
8	5,92			8,59		-2,19	-1,16	
9	4,99			7,66		-1,26		
10	5,08			7,75		-1,35		-12,50
11	6,71	1,41	0,5	8,62	9,6	+0,98		
12	6,59			8,50		+1,10		
13	7,40			9,31		+0,29	+0,62	
14	6,61			8,52		+1,08		
15	8,06			9,97		-0,37		-9,42
16	7,86	1,66	0,5	10,02	9,6	-0,42		
17	5,89			8,05		+1,55		
18	7,92			10,08		-0,48	+0,43	
19	6,13			8,29		+1,31		
20	7,25			9,41		+0,19		-7,27
21	8,82	1,67	0,5	10,99	12,8	+1,81		
22	8,07			10,24		+2,56		
23	8,74			10,91		+1,89	+2,87	
24	7,15			9,32		+3,48		
25	6,02			8,19		+4,61		+7,08
26	10,74	1,80	0,5	13,04	12,8	-0,24		
27	8,54			10,84		+1,96		
28	8,63			10,93		+1,87	+1,90	
29	8,23			10,53		+2,27		
30	6,85			9,15		+3,65		+16,59

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

 \bar{B} = stikstofbalans. \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.

CB = cumulatieve balans.

Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B en \bar{B}) of per verstreken periode (CB).

Tabel IX-8.

Balans 8; man, 40 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}	CB
1	4,39	2,45	0,5	7,34	6,4	-0,94		
2	5,36			8,31		-1,91		
3	6,05			9,00		-2,60	-1,78	
4	5,94			8,89		-2,49		
5	4,42			7,37		-0,97		-8,91
6	5,54	2,71	0,5	8,75	6,4	-2,35		
7	4,82			8,03		-1,63		
8	4,60			7,81		-1,41	-1,78	
9	4,76			7,97		-1,57		
10	5,12			8,33		-1,93		-17,80
11	3,85	2,03	0,5	6,38	9,6	+3,22		
12	5,61			8,14		+1,46		
13	5,61			8,14		+1,46	+1,86	
14	5,85			8,38		+1,22		
15	5,11			7,64		+1,96		-8,48
16	4,98	2,74	0,5	8,22	9,6	+1,38		
17	4,77			8,01		+1,59		
18	5,56			8,80		+0,80	+1,20	
19	5,93			9,17		+0,43		
20	4,56			7,80		+1,80		-2,48
21	5,04	2,30	0,5	7,84	12,8	+4,96		
22	6,22			9,02		+3,78		
23	5,95			8,75		+4,05	+3,78	
24	7,51			10,31		+2,49		
25	6,38			9,18		+3,62		+16,42
26	10,05	2,58	0,5	13,13	12,8	-0,33		
27	8,97			12,05		+0,75		
28	10,28			13,36		-0,56	-0,06	
29	8,76			11,84		+0,96		
30	10,86			13,94		-1,14		+16,10

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

B = stikstofbalans.

 \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.

CB = cumulatieve balans.

Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B, en \bar{B}) of per verstreken periode (CB).

Tabel IX-9.

Balans 9; man, 53 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}
1	6,40	1,84	0,5	8,74	6,4	-2,34	
2	6,78			9,12		-2,72	
3	6,73			9,06		-2,67	-2,65
4	6,77			9,11		-2,71	
5	6,87			9,21		-2,81	
8	7,32	1,99	0,5	9,81	9,6	-0,21	
9	5,67			8,16		+1,44	
10	8,20			10,69		-1,09	+0,18
11	5,97			8,46		+1,14	
12	7,49			9,98		-0,38	
15	7,07	1,87	0,5	9,44	9,6	+0,16	
16	7,39			9,76		-0,16	
17	7,96			10,33		-0,73	-0,45
18	7,94			10,31		-0,71	
19	8,02			10,39		-0,79	

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

B = stikstofbalans.

 \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B en \bar{B}).

Dag 8 - 12 4 maaltijden per dag.

Dag 15 - 19 3 maaltijden per dag.

Tabel IX-10.

Balans 10; man, 53 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}
1	6,51	2,18	0,5	9,19	6,4	-2,79	
2	7,48			10,16		-3,76	
3	6,64			9,32		-2,92	-3,06
4	6,19			8,87		-2,47	
5	7,06			9,74		-3,34	
8	7,75	2,39	0,5	10,64	9,6	-1,04	
9	8,59			11,48		-1,88	
10	7,82			10,71		-1,11	-1,25
11	7,74			10,63		-1,03	
12	7,91			10,80		-1,20	
15	7,84	2,43	0,5	10,77	9,6	-1,17	
16	7,66			10,59		-0,99	
17	7,90			10,83		-1,23	-0,87
18	6,55			9,48		+0,12	
19	7,74			10,67		-1,07	
22	8,64	2,30	0,5	11,44	12,8	+1,36	
23	8,29			11,09		+1,71	
24	9,10			11,90		+0,90	+1,38
25	9,05			11,85		+0,95	
26	8,02			10,82		+1,98	

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

B = stikstofbalans.

 \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B. en \bar{B}).

Dag 8 - 12 3 maaltijden per dag.

Dag 15 - 19 4 maaltijden per dag.

Tabel IX-11.

Balans 11; man, 55 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}
1	6,21	2,21	0,5	8,92	6,4	-2,52	
2	9,45			12,16		-5,76	
3	7,22			9,93		-3,53	-4,28
4	8,93			11,64		-5,24	
5	8,06			10,77		-4,37	
8	8,46	2,35	0,5	11,31	9,6	-1,71	
9	6,97			9,82		-0,22	
10	10,44			13,29		-3,69	-2,53
11	10,61			13,46		-3,86	
12	9,94			12,79		-3,19	
15	7,86	2,47	0,5	10,83	9,6	-1,23	.
16	8,19			11,16		-1,56	
17	10,44			13,41		-3,81	-1,80
18	7,80			10,77		-1,17	
19	7,88			10,85		-1,25	

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

 \bar{B} = stikstofbalans. \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B en \bar{B}).

Dag 8 - 12 3 maaltijden per dag.

Dag 15 - 19 4 maaltijden per dag.

Tabel IX-12.

Balans 12; man, 59 jaar.

dag	U	F	H	U+F+H	V	B	\bar{B}
1	6,87	1,98	0,5	9,35	6,4	-2,95	
2	6,51			8,99		-2,59	
3	6,63			9,11		-2,71	-1,80
4	4,04			6,52		-0,12	
5	4,53			7,01		-0,61	
8	7,60	1,76	0,5	9,86	9,6	-0,26	
9	6,96			9,22		+0,38	
10	8,48			10,74		-1,14	-0,08
11	7,68			9,94		-0,34	
12	8,28			10,54		+0,94	
15	7,04	1,92	0,5	9,46	9,6	+0,14	
16	6,37			8,79		+0,81	
17	5,08			7,50		+2,10	+0,84
18	6,27			8,69		+0,91	
19	7,44			9,86		+0,26	
22	6,28	2,01	0,5	8,79	12,8	+4,01	
23	5,33			7,84		+4,96	
24	6,89			9,40		+3,40	+3,39
25	8,23			10,74		+2,06	
26	7,79			10,30		+2,50	

U = stikstofverlies via de urine.

F = stikstofverlies via de faeces.

H = stikstofverlies via de huid.

U+F+H = totaal stikstofverlies (urine + faeces + huid).

V = stikstofopname met de voeding.

 \bar{B} = stikstofbalans. \bar{B} = gemiddelde balans over 5 dagen.Uitslagen uitgedrukt in grammen stikstof per dag (U, F, H, U+F+H, V, B en \bar{B}).

Dag 8 - 11 3 maaltijden per dag.

Dag 15 - 18 4 maaltijden per dag.

Tabel IX-13.

Balans 1 t/m 8.

PLASMA AMINOZUURCONCENTRATIES IN MICROMOL/L AAN HET EIND VAN IEDERE 5 DAAGSEBALANSPERIODE: VERTAKTE KETEN AMINOZUREN.

		40 g eiwit		60 g eiwit		80 g eiwit	
		nat.	VKAZ	nat.	VKAZ	nat.	VKAZ
<u>LEUCINE</u>							
m., 61	-	83	-	92	-	91	
m., 49	74	53	-	46	-	74	
v., 52	59	85	70	62	61	54	
v., 42	64	72	76	71	75	93	
m., 52	110	125	155	94	95	110	
v., 50	93	103	104	118	102	118	
v., 73	76	82	101	105	52	54	
m., 40	80	83	42	68	49	53	
<u>ISOLEUCINE</u>							
m., 61	-	55	-	56	-	66	
m., 49	45	53	-	42	-	58	
v., 52	43	49	49	44	47	41	
v., 42	38	42	46	47	50	58	
m., 52	66	66	82	65	63	67	
v., 50	62	71	69	75	68	69	
v., 73	44	44	68	75	36	37	
m., 40	51	48	26	39	35	30	
<u>VALINE</u>							
m., 61	-	142	-	192	-	188	
m., 49	60	66	-	70	-	131	
v., 52	117	170	129	124	92	101	
v., 42	100	111	118	117	144	175	
m., 52	181	206	222	191	163	221	
v., 50	140	159	161	214	171	235	
v., 73	119	138	159	191	75	79	
m., 40	110	128	66	127	77	104	

N.B. nat. : tijdens dieet met natuurlijk eiwit (20% vertakte keten
aminozuren)

VKAZ : tijdens dieet met eiwit tot 35% verrijkt met vertakte keten
aminozuren.

Tabel IX-14.

Balans 1 t/m 8.

PLASMA AMINOZUURCONCENTRATIES IN MICROMOL/L AAN HET EIND VAN IEDERE 5 DAAGSEBALANSPERIODE; AROMATISCHE AMINOZUREN.

		40 g eiwit		60 g eiwit		80 g eiwit	
		nat.	VKAZ	nat.	VKAZ	nat.	VKAZ
<hr/>							
PHENYLANALINE							
m., 61		-	69	-	58	-	58
m., 49		-	61	-	47	-	75
v., 52		60	77	80	64	80	69
v., 42		102	104	108	93	108	115
m., 52		84	109	120	77	88	81
v., 50		63	65	66	74	70	84
v., 73		81	78	88	90	83	82
m., 40		76	74	60	70	74	78
<hr/>							
TYROSINE							
m., 61		50	66	58	69	69	65
m., 49		94	81	112	68	120	-
v., 52		169	182	211	164	215	187
v., 42		203	190	211	178	219	203
m., 52		188	169	226	162	199	195
v., 50		110	93	118	124	129	121
v., 73		123	113	142	126	154	140
m., 40		152	115	142	156	158	144
<hr/>							
TRYPTOFAN							
m., 61		32	31	46	32	36	40
m., 49		49	52	57	50	48	-
v., 52		49	33	64	47	69	58
v., 42		31	41	50	36	43	54
m., 52		54	41	54	42	54	55
v., 50		31	27	34	38	35	37
v., 73		54	50	67	49	53	55
m., 40		63	47	57	52	72	82

N.B. nat. : tijdens dieet met natuurlijk eiwit (20% vertakte keten
aminozuren)

VKAZ : tijdens dieet met eiwit tot 35% verrijkt met vertakte keten
aminozuren.

Tabel IX-15.

Balans 1 t/m 8.

3-METHYL-HISTIDINE EXCRETIE IN MICROMOL PER 24 UUR OP DAG 3, 4 en 5 VANIEDERE VERZAMELPERIODE.

	40 g eiwit		60 g eiwit		80 g eiwit	
	nat.	VKAZ	nat.	VKAZ	nat.	VKAZ
m., 61	51	--	120	94	127	97
	43	42	117	120	90	114
	102	52	106	127	101	100
m., 49	131	162	222	207	224	191
	189	261	278	160	285	249
	178	230	311	173	216	198
v., 52	271	175	248	245	345	277
	238	185	254	254	307	268
	262	157	246	143	237	281
v., 42	123	92	123	124	246	196
	121	119	139	123	219	162
	139	111	120	170	242	193
m., 52	430	492	367	456	445	541
	380	301	270	323	542	385
	326	390	508	391	422	425
v., 50	252	211	212	240	283	267
	234	195	244	224	283	219
	256	208	242	247	306	259
v., 73	149	197	198	226	300	218
	109	179	196	175	223	234
	156	188	209	189	186	176
m., 40	223	160	222	229	311	523
	187	153	217	247	335	477
	217	259	185	222	426	519

N.B. nat. : tijdens dieet met natuurlijk eiwit (20% vertakte keten
aminozuren)

VKAZ : tijdens dieet met eiwit tot 35% verrijkt met vertakte keten
aminozuren.

Tabel IX-16.

Balans 1 t/m 8.

3-METHYL-HISTIDINE (GECORRIGEERD VOOR EXOGEEN 3-METHYL-HISTIDINE)

GECORRELEERD AAN DE CREATININE EXCRETIE (MICROMOL/MMOL) OP DAG 3, 4 en 5
VAN IEDERE VERZAMELPERIODE.

	40 g eiwit		60 g eiwit		80 g eiwit	
	nat.	VKAZ	nat.	VKAZ	nat.	VKAZ
m., 61	5,61	-	10,48	12,93	2,21	6,94
	4,80	4,11	10,16	14,03	-	9,09
	11,53	5,79	8,25	17,42	-	7,08
m., 49	6,76	10,95	9,76	7,79	8,37	7,09
	11,67	15,80	13,62	4,47	11,87	10,80
	9,11	13,09	15,00	4,83	8,27	8,66
v., 52	28,81	23,33	31,82	19,11	27,47	24,88
	21,77	22,84	21,55	22,07	19,53	21,91
	31,49	15,54	30,89	7,78	12,41	28,11
v., 42	11,65	13,14	7,80	7,30	13,54	16,31
	10,61	14,00	9,76	8,10	15,61	12,26
	13,26	15,00	7,26	11,68	15,00	15,58
m., 52	27,22	26,59	21,43	26,50	22,54	24,68
	26,76	22,63	22,65	22,64	24,78	20,90
	23,45	29,10	21,85	24,55	20,98	22,42
v., 50	23,85	20,96	13,68	20,12	13,30	20,11
	19,31	20,79	16,59	21,29	13,60	17,40
	20,21	22,21	16,14	19,33	15,73	18,76
v., 73	15,47	19,34	20,85	21,46	27,43	21,54
	10,54	21,50	22,46	20,49	19,09	24,21
	16,06	25,09	24,09	19,31	14,83	16,80
m., 40	15,27	12,80	10,79	14,31	13,89	-
	10,81	11,25	10,81	15,73	18,33	-
	14,18	17,27	9,86	16,95	23,68	-

N.B. nat. : tijdens dieet met natuurlijk eiwit (20% vertakte keten
aminozuren)

VKAZ : tijdens dieet met eiwit tot 35% verrijkt met vertakte keten
aminozuren.

Tabel IX-17. Eiwittturnover in g.N./9 uur; controles; gevoed (1 g.E./kg.)

	kg.	ammoniak			ureum		
		Q	S	A	Q	S	A
m., 29	57	17,8	12,8	10,6	16,8	11,8	9,6
m., 32	82	26,9	19,4	16,6	38,5	31,0	28,1
m., 40	92	33,4	25,3	21,3	31,7	23,6	19,7
m., 44	66	22,5	16,1	14,7	22,1	15,7	14,3
m., 51	97	34,3	27,9	21,2	19,4	13,0	6,3
m., 64	75	22,2	15,3	12,4	23,6	16,7	13,8
v., 34	60	14,3	9,4	7,1	19,4	14,5	12,2
v., 40	58	12,3	6,9	4,5	18,5	13,0	10,6
v., 47	63	16,4	9,0	8,1	20,8	13,4	12,5
v., 56	64	21,1	16,9	12,6	19,2	15,0	10,7
v., 66	70	14,8	9,0	5,6	19,3	13,6	10,1
v., 68	52	12,8	9,0	6,0	12,5	8,7	5,7

Tabel IX-18. Eiwittturnover in g.N./9 uur; controles; gevoed (0,5 g.E./kg.)

	kg.	ammoniak			ureum		
		Q	S	A	Q	S	A
m., 29	57	18,2	14,5	14,4	11,5	7,8	7,7
m., 32	82	24,6	19,7	19,2	17,8	12,9	12,4
m., 40	92	19,7	15,1	13,7	25,0	20,3	18,9
m., 44	66	14,5	10,4	10,2	18,6	14,5	14,2
v., 34	60	9,3	3,7	5,4	16,1	10,5	12,1
v., 40	58	13,4	9,0	9,6	15,0	10,6	11,2
v., 47	63	13,4	9,0	9,1	10,6	6,2	6,3
v., 56	64	18,8	15,0	14,6	15,6	11,8	11,4

Tabel IX-19. Eiwitturnover in g.N./9 uur; controles; vastend

	kg.	ammoniak			ureum		
		Q	S	A	Q	S	A
m., 29	57	15,2	13,0	15,2	-	-	-
m., 32	82	18,3	14,5	18,3	17,4	13,6	17,4
m., 40	92	16,7	12,9	16,7	18,0	14,2	18,0
m., 44	66	12,8	9,7	12,8	17,6	14,5	17,6
m., 64	75	22,5	16,8	22,5	13,7	8,1	13,7
v., 34	60	9,5	6,2	9,5	16,9	13,6	16,9
v., 40	58	12,1	8,5	12,1	14,5	10,9	14,5
v., 47	63	17,5	13,7	17,5	10,2	6,4	10,2
v., 66	70	12,8	10,0	12,8	10,5	7,7	10,5
v., 68	52	8,5	5,7	8,5	9,9	7,2	9,9

Tabel IX-20. Eiwitturnover in g.N./9 uur; controles; gevoed (VKAZ eiwit)

	kg.	ammoniak			ureum		
		Q	S	A	Q	S	A
m., 40	92	18,8	13,3	12,7	25,1	19,6	19,1
m., 44	66	16,1	12,2	11,8	23,4	19,5	19,0

Tabel IX-21. Eiwitturnover in g.N./9 uur; patienten; gevoed (1 g.E./kg)

	kg.	ammoniak			ureum		
		Q	S	A	Q	S	A
m., 31	58	18,2	14,7	10,6	24,8	21,3	17,2
m., 44	100	36,2	33,3	23,1	58,1	55,2	45,0
m., 53	91	43,4	40,1	31,3	31,9	28,6	21,6
m., 53	95	29,6	27,0	17,2	31,1	28,5	18,6
m., 58	78	27,1	23,3	16,9	44,7	40,9	34,5
m., 58	68	18,5	12,6	9,7	21,0	15,1	12,3
m., 59	70	18,6	14,2	9,4	27,7	23,2	18,5
m., 69	75	27,7	21,9	17,9	28,1	22,3	18,3
v., 33	51	15,8	14,3	9,2	20,3	18,7	13,6
v., 39	49	13,7	9,9	7,1	22,1	18,3	15,5
v., 60	68	14,9	9,3	6,0	22,9	17,3	14,0
v., 63	60	36,8	35,3	29,0	13,2	11,7	5,4
v., 70	59	14,8	9,9	7,1	18,0	13,1	10,3
v., 73	80	18,9	15,5	8,4	30,6	27,2	20,0

Tabel IX-22. Eiwitturnover in g.N./9 uur; patienten; gevoed (0,5 g.E./kg.)

	kg.	ammoniak			ureum		
		Q	S	A	Q	S	A
m., 31	58	22,3	19,8	18,5	32,3	29,8	28,5
m., 53	91	31,5	29,4	27,1	26,0	23,9	21,6
m., 53	95	34,6	32,0	29,3	33,5	30,9	28,2
m., 55	82	33,4	31,5	28,1	14,1	22,2	18,9
m., 59	70	22,4	20,1	17,2	18,8	16,5	13,6
m., 69	75	18,4	15,1	13,5	21,0	17,6	16,0
v., 33	51	11,3	8,5	8,0	33,0	30,1	29,6
v., 58	72	13,8	9,6	8,5	24,1	19,9	18,9

Tabel IX-23. Eiwitturnover in g.N./9 uur; patienten; vastend

	kg.	ammoniak			ureum		
		Q	S	A	Q	S	A
m., 31	58	15,5	11,5	15,5	23,4	19,4	23,4
m., 44	100	10,0	8,7	10,0	25,2	23,9	25,2
m., 53	91	28,3	25,4	28,3	22,7	19,8	22,7
m., 53	95	15,9	12,9	15,9	30,5	27,5	30,5
m., 55	82	31,0	26,9	31,0	40,0	36,1	40,0
m., 58	78	28,3	25,5	28,3	33,3	30,5	33,3
m., 58	68	16,0	12,0	16,0	14,8	10,8	14,8
m., 59	70	11,0	9,5	11,0	10,9	9,4	10,9
m., 69	75	11,6	7,5	11,6	43,9	39,8	43,9
v., 39	49	8,9	6,7	8,9	13,9	11,8	13,9
v., 60	68	10,1	7,4	10,1	11,3	8,6	11,3
v., 63	60	27,9	24,7	27,9	31,3	28,1	31,3

Tabel IX-24. Eiwitturnover in g.N./9 uur; patienten; gevoed (VKAZ eiwit)

	kg.	ammoniak			ureum		
		Q	S	A	Q	S	A
v., 33	51	12,3	10,7	9,0	18,9	17,3	15,6
m., 53	95	25,5	21,1	17,7	39,7	35,3	31,8

Tabel IX-25.

Veranderingen tijdens balansonderzoek bij 8 patientenLichaamsgewicht (kg); gemiddelde van iedere 5 daagse periode

	I	II	III	IV	V	VI
m., 61	44,3	44,2	44,8	45,4	46,0	46,6
m., 49	85,2	84,8	84,0	84,4	84,8	85,1
v., 52	52,7	52,0	51,6	52,0	52,2	52,3
v., 42	56,4	56,2	55,5	55,4	55,5	55,0
m., 52	82,9	83,9	84,0	84,6	84,1	84,3
v., 50	79,6	78,4	78,2	77,9	78,5	78,5
v., 73	52,8	52,2	52,3	53,4	54,3	55,2
m., 40	101,1	102,2	102,1	101,1	101,8	102,7
\bar{x}	69,4	69,2	69,1	69,3	69,7	70,0

Serum albumine (g/l) op dag 5 van iedere 5-daagse balansperiode

	I	II	III	IV	V	VI
m., 61	31,5	-	31,8	-	37,9	37,0
m., 49	30,7	26,9	28,3	26,7	29,6	26,6
v., 52	28,2	27,2	26,2	24,3	22,1	26,3
v., 42	22,5	23,8	23,6	21,8	21,8	22,4
m., 52	28,5	30,6	26,4	28,7	31,8	31,5
v., 50	29,4	28,5	29,4	27,1	26,6	30,8
v., 73	29,0	26,4	25,8	25,1	24,7	26,3
m., 40	35,0	31,6	29,9	33,3	25,2	30,5
\bar{x}	29,4	27,9	27,7	26,7	27,5	28,9

LITERATUURREFERENTIES

1. Adams RF. Determination of amino acid profiles in biological samples by gas chromatography. J Chrom 1974;95:189-212.
2. Adams RF, Vandemark FL, Schmidt GJ. Ultramicro GC determination of amino acids using glass open-tubular columns and a nitrogen-selective detector. J Chron Sci 1977;15:63-68.
3. Ambrose JA, Sullivan P, Ingerson A, Brown RL. Fluorometric determination of tyrosine. Clin Chem 1969;15:611-620.
4. Ballard FJ, Tomas FM. 3-Methylhistidine as a measure of skeletal muscle protein breakdown in human subjects: the case for its continued use. Clin Sci 1983;65:209-215.
5. Beisel WR. Metabolic balance studies - their continuing usefulness in nutritional research. Am J Clin Nutr 1979;32:271-274.
6. Bessman AN, Mirick GS. Blood ammonia levels following the ingestion of casein and whole blood. J Clin Invest 1958;37:990-998.
7. Blackburn GL, Benotti PN, Bistrian BR, et al. Nutritional assessment and treatment of hospital malnutrition. Infusiontherapie 1979;6:238-250.
8. Bloxham DL, Warren WH. Error in the determination of tryptophan by the method of Dencla and Dewey. A revised procedure. Anal Bioch 1974;60:621-625.
9. Bolker WT, Bushman CJ, Tidwell PW. Spectrophotometric determination of ammonia as indophenol. Anal Chem 1961;33:592-594.
10. Buse MG, Reid SS, Leucine, a possible regulator of protein turnover in muscle. J Clin Invest. 1975;56:1250-1261.
11. Galloway DH, Odell ACF, Margen S. Sweat and miscellaneous nitrogen losses in human balance studies. J Nutr 1971;101:775-786.
12. Cascino A, Cangiano C, Fiaccadori F, et al. Plasma and cerebrospinal fluid amino acid patterns in hepatic encephalopathy. Dig Dis Sci 1982;27:828-832.
13. Cerra FB, McMillen M, Angelico R, Cirrhosis, encephalopathy and improved results with metabolic support. Surgery 1983;94:612-619.

14. Cerra FB, Mazusky JE, Chute E, et al. Branched chain metabolic support. A prospective randomised double-blind trial in surgical stress. *Ann Surg* 1984;199:286-291.
15. Chalmers TC, Davidson CS. A survey of recent therapeutic measures in cirrhosis of the liver. *N Eng J Med* 1949;240:449-455.
16. Clague MB, Keir MJ, Wright PD, Johnston IDA. The effects of nutrition and trauma on whole-body protein metabolism in man. *Clin Sci* 1983;65:165-175.
17. Conn HO. Trailmaking and number-connection tests in the assessment of mental state in portal systemic encephalopathy. *Am J Dig Dis* 1977;22:541-550.
18. Conn HO, Leevy CM, Vlahcevic ZR, et al. Comparison of lactulose and neomycin in the treatment of chronic portal-systemic encephalopathy. A double blind controlled trial. *Gastroenterology* 1977;72:573-583.
19. Daniel PM, Pratt OE, Spargo E. The metabolic homeostatic role of muscle and its function as a store of protein. *Lancet* 1977;ii:446-448.
20. Davidson CS, Gabuzda GJ. Nutrition and disease of the liver. *N Eng J Med* 1950;243:779-788.
21. Denckla WD, Dewey HK. The determination of tryptophan in plasma, liver, and urine. *J Lab Clin Med* 1967;69:160-169.
22. Dumas J. *J Pharm Chim* 1834, 20:144.
23. Eckhardt RD, Faloon WW, Davidson CS. Improvement of active liver cirrhosis in patients maintained with amino acids intravenously as the source of protein and lipotropic substances. *J Clin Invest* 1949;28:603-614.
24. Eckhardt RD, Zamcheck N, Sidman RL, Gabuzda GJ, Davidson CS. Effect of protein starvation and of protein feeding on the clinical course, liver function, and liver histochemistry of three patients with active fatty alcoholic cirrhosis. *J Clin Invest* 1950;29:227-237.
25. Egberts E-H, Hamster W. Effective treatment of latent porto-systemic encephalopathy (PSE) with oral branched chain amino acids (BCAA). "Encefalopatica epatica" Rome 1982. Congres Italiaanse Vereniging voor de studie van de lever (abstract)
26. Elia M. The effects of nitrogen and energy intake on the metabolism of normal, depleted and injured man: considerations for practical nutritional support. *Clin Nutr* 1982;1:173-192.

27. Eriksson LS, Persson A, Wahren J. Branched-chain amino acids in the treatment of chronic hepatic encephalopathy. *Gut* 1982;23:801-806.
28. Fenton JCB, Knight EJ, Humpherson PL. Milk and cheese diet in portal-systemic encephalopathy. *Lancet* 1966;i:164-166.
29. Fern EB, Garlick PJ, McNurlan MA, Waterlow JC. The excretion of isotope in urea and ammonia for estimating protein turnover in man with (¹⁵N)glycine. *Clin Sci* 1981;61:217-228.
30. Fernstrom JD, Wurtman RJ, Hammarstrom-Wiklund B, Rand WM, Munro HN, Davidson CS. Diurnal variations in plasma neutral amino acid concentrations among patients with cirrhosis: effect of dietary protein. *Am J Clin Nutr* 1979;32:1923-1933.
31. Fernstrom JD, Wurtman RJ. Brain serotonin content; physiological regulation by plasma neutral amino acids. *Science* 1972;178:414-416.
32. Fischer JE. in: Wright Alberti Karran, Millward Sadler eds. *Liver and biliary disease*. W.B. Saunders Company, London, Philadelphia, Toronto 1979:988.
33. Fischer JE, Rosen HM, Ebeid AM, James JH, Keane JM, Soeters PB. The effect of normalization of plasma amino acids on hepatic encephalopathy in man. *Surgery* 1976;80:77-91.
34. Fischer JE, Baldessarini RJ. False neurotransmitters and hepatic failure. *Lancet* 1971;ii:75-79.
35. Fischer JE, Funovics JM, Aguirre A, et al. The role of plasma amino acids in hepatic encephalopathy. *Surgery* 1975;78:276-290.
36. Forbes GB. Another source of error in the metabolic balance method. *Nutr Rev* 1973;31:297-300.
37. Freund H, Dienstag J, Lehrich J et al. Infusion of branched-chain amino acid solution in patients with hepatic encephalopathy. *Ann Surg* 1982;196:209-220.
38. Freund H, Yoshimura N, Fischer JE. Chronic hepatic encephalopathy. Long-term therapy with a branched-chain amino-acid-enriched elemental diet. *JAMA* 1979;242:347-356.
39. Gabuzda GJ, Davidson CS. Protein metabolism in patients with cirrhosis of the liver. *Ann NY Acad Sci* 1954;57:776-785.
40. Gabuzda GJ, Philips GB, Davidson CS. Reversible toxic manifestations in patients with cirrhosis of the liver given cation-exchange resins. *N Eng J Med* 1952;246:124-130.

41. Gabuzda GJ, Shear L. Metabolism of dietary protein in hepatic cirrhosis. *Am J Clin Nutr* 1970;23:479-487.
42. Garlick PJ, Clugston GA, Waterlow JC. Influence of low-energy diets on whole-body protein turnover in obese subjects. *Am J Phys* 1980;238:E235-244.
43. Garlick PJ, Clugston GA, Swick RW, Waterlow JC. Diurnal pattern of protein and energy metabolism in man. *Am J Clin Nutr* 1980;33:1983-1986.
44. Garrow J. In: *Treat obesity seriously*. Blackwell, London.
45. Garza C, Scrimshaw NS, Young VR. Human protein requirements: interrelationships between energy intake and nitrogen balance in young men consuming the 1973 FAO/WHO safe level of egg protein, with added non-essential amino acids. *J Nutr* 1978;108:90-96.
46. Garza C, Scrimshaw NS, Young VR. Human protein requirements: the effect of variation in energy intake within the maintenance range. *Am J Clin Nutr* 1976;29:280-287.
47. Glass RE, Fern EB, Garlick PJ. Whole-body protein turnover before and after resection of colorectal tumours. *Clin Sci* 1983;64:101-108.
48. Goldberg AL, Odessey R. Oxidation of amino-acids by diaphragms of fed and fasted rats. *Am J Physiol* 1972;223:1384-1391.
49. Goldbourt U, Medalie JH. Weight-height indices. *Br J prev soc Med* 1974;28:116-126.
50. Golden MHN, Waterlow JC. Total protein synthesis in elderly people: a comparison of results with (¹⁵N)glycine and (¹⁴C)leucine. *Clin Sci Molec Med* 1977;53:277-288.
51. Golden MHN, Waterlow JC, Picou D. Protein turnover, synthesis and breakdown before and after recovery from protein-energy malnutrition. *Clin Sci Molecul Med* 1977;53:473-477.
52. Greenberger NJ, Carley J, Schenker S, et al. Effect of vegetable and animal protein diets in chronic hepatic encephalopathy. *Am J Dig Dis* 1977;22:845.
53. Groot GH de. *Persoonlijke mededeling*. 1980.
54. Hahn M, Massen O, Nencki M, Pawlow J. Die Eck'sche Fistel zwischen der unteren Hohlvene und der Pfortader und ihre Folgen für den Organismus. *Arch f exp Pathol u Pharmacol* 1893;32:161-210.
55. Harris and Benedict. A biometric study of basal metabolism in man. Publication no. 279 of the Carnegie Institution Washington 1919.

56. Haverberg LN, Deckelbaum L, Bilimazes C, Munro HN, Young VR. Myofibrillar protein turnover and urinary N-methylhistidine output. Response to dietary supply of protein and energy. *Biochem J* 1975;152:503-510.
57. Hegsted DM. Balance studies. *J Nutr* 1976;106:307-311.
58. Holbrook IB, Gross E, Milewski PJ, Shipley K, Irving MH. N-methylhistidine excretion and myofibrillar protein breakdown in patients receiving intravenous or enteral nutrition. *Clin. Sci* 1980;59:211-214.
59. Holdsworth JD, Clague MB, Wright PD, Johnston IDA. The effect of branched-chain amino acids on body protein breakdown and synthesis in patients with chronic liver disease. *Adv Clin Nutr.* ed. IDA Johnston MTP press Lancaster, Boston, The Hague, 1983.
60. Hourani BT, Hamlin EM, Reynolds TB. Cerebrospinal fluid glutamine as a measure of hepatic encephalopathy. *Arch Intern Med* 1971;127:1033-1036.
61. Iwasaki Y, Sato H, Ohkubo A, et al. Effect of spontaneous portal-systemic shunting on plasma insulin and amino acid concentrations. *Gastroenterology* 1980;78:677-683.
62. James JH, Ziparo V, Jeppsson B, Fischer JE. Hyperammonaemia, plasma aminoacid imbalance, and blood-brain aminoacid transport: a unified theory of portal-systemic encephalopathy. *Lancet* 1979;ii:772-775.
63. Jeffries GH. in: Beeson PB, McDermott W, Wijngaarden JB eds. *Cecil Textbook of Medicine*. WB Saunders, Philadelphia, London, Toronto 1979;15th.ed.:1666,chapter 456.2.
64. O'Keefe SJD, Abraham RR, Davis M, Williams R. Protein turnover in acute and chronic liver disease. *Acta Chir Scand* 1981;suppl.507:91-101.
65. O'Keefe SJD, Abraham R, El-Zayadi A, Marshall W, Davis M, Williams R. Increased plasma tyrosine concentrations in patients with cirrhosis and fulminant hepatic failure associated with increased plasma tyrosine flux and reduced hepatic oxidation capacity. *Gastroenterology* 1981;81:1017-1024.
66. Kinney JM. Energy requirements for parenteral nutrition. In Fischer JE, ed. *Total parenteral nutrition*. Little, Brown & Company, Boston 1976, blz.140.

67. Kleinberger G, Riederer P, Ferenci P, et al. Complete parenteral nutrition and intravenous administration of L-valine in hepatic coma. In: Holm (ed) Aminosäuren- und Ammoniakstoffwechsel bei Leberinsuffizienz. 220-225, Witzstrock, Baden-Baden, Köln, New York 1982.
68. Kurzer MS, Calloway DH. Nitrate and nitrogen balances in men. Am J Clin Nutr 1981;34:1305-1313.
69. LaMont JT, Koff RS, Isselbacher KJ, in: Petersdorf RG, Adams RD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Martin JB, Wilson JD, eds. Harrison's Principles of Internal Medicine. McGraw-Hill, New York, 1983;10th.edition:chapter 320:1816.
70. Lewis JH, Taylor FHL, Davidson CS. Protein nutrition. The therapeutic use of a digest of liver protein, especially in patients with cirrhosis of the liver. N Eng J Med 1947;236:351-359.
71. Maiolo AT, et al. Brain energy metabolism in hepatic coma. Exp Biol Med 1971;4:52-67.
72. Marchesini G, Bianchi G, Zoli M, et al. Plasma amino acid response to protein ingestion in patients with liver cirrhosis. Gastroenterology 1983;85:283-290.
73. Marchesini G, Zoli M, Dondi C, Angiolini A, Melli A, Pisi E. Ammonia-induced changes in pancreatic hormones and plasma amino acids in patients with liver cirrhosis. Dig Dis Sci 1982;27:406-412.
74. Marchesini G, Zoli M, Dondi C, Bianchi G, Cirulli M, Pisi E. Anticatabolic effect of branched-chain amino acid-enriched solutions in patients with liver cirrhosis. Hepatology 1982;2:420-425.
75. Marchesini G, Zoli M, Dondi C, et al. Prevalence of subclinical hepatic encephalopathy in cirrhotics and relationship to plasma amino acid imbalance. Dig Dis Sci 1980;25:763-768.
76. Marchesini G, Zoli M, Angiolini A, Dondi C, Bianchi FB, Pisi E. Muscle protein breakdown in liver cirrhosis and the role of altered carbohydrate metabolism. Hepatology 1981;1:294-299.
77. Marchesini G, Forlani G, Zoli M, et al. Effect of euglycemic insulin infusion on plasma levels of branched-chain amino acids in cirrhosis. Hepatology 1983;3:184-187.
78. Marliss EB, Wei C-N, Dietrich LL. The short-term effects of protein intake on 3-methylhistidine excretion. Am J Clin Nutr 1979;32:1617-1621.

79. McCullough AJ, Czaja AJ, Jones JD, Go VLW. The nature and prognostic significance of serial amino acid determinations in severe chronic active liver disease. *Gastroenterology* 1981;81:645-652.
80. McGhee A, Henderson JM, Millikan WJ, et al. Comparison of the effects of hepatic-acid and a casein modular diet on encephalopathy, plasma amino acids, and nitrogen balance in cirrhotic patients. *Ann Surg* 1983;197:288-293.
81. Mezey E. Liver disease and nutrition. *Progress in Hepatology. Gastroenterology* 1978;74:770-783.
82. Millikan WJ, Henderson JM, Warren WD, et al. Total parenteral nutrition with F080^(R) in cirrhotics with subclinical encephalopathy. *Ann Surg* 1983;197:294-304.
83. Millward DJ, Bates PC, Grimble GK, Brown JG. Quantitative importance of non-skeletal-muscle sources of N-methylhistidine in urine. *Biochem J* 1980;190:225-228.
84. Morgan MY. Enteral nutrition in chronic liver disease. *Act Chir Scand* 1981;suppl.507:81-90.
85. Morgan MY, Milsom JP, Sherlock S. Plasma ratio of valine, leucine and isoleucine to phenylalanine and tyrosine in liver disease. *Gut* 1978;19:1068-1073.
86. Mullen JL, Buzby GP. Nutritional assessment, support and outcome in surgical patients. In: Kleinberger G. and Deutsch E. eds. *New Aspects of Clinical Nutrition*. Karger Basel 1983.
87. Munro HN. Present status of 3-methylhistidine. In: Wesdorp RIC, Soeters PB eds. *Clinical Nutrition '81*. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne and New York 1982.
88. Munro HN, Fernstrom JD, Wurtman RJ. Insulin, plasma aminoacid imbalance, and hepatic coma. *Lancet* 1975;i:722-724.
89. Murphy TL, Chalmers TC, Eckhardt RD, Davidson CS. Hepatic coma. Clinical and laboratory observations on forty patients. *N Eng J Med* 1948;239:605-612.
90. Myers JD. Net splanchnic glucose production in normal man and in various disease states. *J Clin Invest* 1950;29:1421-1429.
91. Nagabhushan VS, Narasinga Rao BS. Studies on 3-methylhistidine metabolism in children with protein-energy malnutrition. *Am J Clin Nutr* 1978;31:1322-1327.

92. Nagasawa T, Funabiki R. Quantitative Determination of urinary N-methylhistidine output as an index of myofibrillar protein degradation. *J Bioch* 1981;89:1155.
93. Oddoye EA, Margen S. Nitrogen balance studies in humans: long-term effect of high nitrogen intake on nitrogen accretion. *J Nutr* 1979;109:363-377.
94. Odessey R, Goldberg AL. Oxidation of leucine by rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 1972;223:1376-1383.
95. Owen OE, Patel MS, Block BSB, Kreulen TH, Reichle FA, Mozzoli MA. Gluconeogenesis in normal, cirrhotic, and diabetic humans. In: Hanson RW, Mehلمان MA, eds. *Gluconeogenesis. Its regulation in mammalian species*. John Wiley and sons, 1976;15:533-558.
96. Owen OE, Reichle FA, Mozzoli MA, et al. Hepatic, gut, and renal substrate flux rates in patients with hepatic cirrhosis. *J Clin Invest* 1981;68:240-252.
97. Parsons-Smith BG, Summerskill WHJ, Dawson AM, Sherlock S. The electroencephalograph in liver disease. *Lancet* 1957;ii:867-871.
98. Patek AJ jr. Treatment of alcoholic cirrhosis of the liver with high vitamin therapy. *Proc Soc Exper Biol Med* 1937;37:329.
99. Patek AJ, Post J. Treatment of cirrhosis of the liver by a nutritious diet and supplements rich in vitamin B complex. *J Clin Invest* 1941;20:481-505.
100. Patek AJ, Post J, Ratnoff OD, Mankin H, Hillman RW. Dietary treatment of cirrhosis of the liver. *J Am Med Assoc* 1948;138:543-549.
101. Philips GB, Schwartz R, Gabuzda GJ, Davidson CS. The syndrome of impending hepatic coma in patients with cirrhosis of the liver given certain nitrogenous substances. *N Eng J Med* 1952;247:239-246.
102. Picou D, Taylor-Roberts T. The measurement of total protein synthesis and catabolism and nitrogen turnover in infants in different nutritional states and receiving different amounts of dietary protein. *Clin Sci* 1969;36:283-296.
103. Plough IC, Iber FL, Shipman ME, Chalmers TC. The effects of supplementary calories on nitrogen storage at high intakes of protein in patients with chronic liver disease. *Am J Clin Nutr* 1956;4:224-230.
104. Rand WM, Scrimshaw NS, Young VR. Determination of protein allowances in human adults from nitrogen balance data. *Am J Clin Nutr* 1977;30:1129-1134.

105. Reeds PJ, James WPT. Nutrition: the changing scene. Protein turnover. *Lancet* 1983;i:571-574.
106. Rennie MJ, Edwards RHT, Halliday D, Matthews DE, Wolman SL, Millward DJ. Muscle protein synthesis measured by stable isotope techniques in man: the effects of feeding and fasting. *Clin Sci* 1982;63:519-523.
107. Rennie MJ, Millward DJ. 3-Methylhistidine excretion and the urinary 3-methylhistidine/creatinine ratio are poor indicators of skeletal muscle protein breakdown. *Clin Sci* 1983;65:217-225.
108. Rennie MJ, Harrison R. Nutrition: the changing scene. Effects of injury, disease, and malnutrition on protein metabolism in man. *Lancet* 1984;i:323-325.
109. Rikkers L, Jenko P, Rudman D, Freides D. Subclinical hepatic encephalopathy: detection, prevalence, and relationship to nitrogen metabolism. *Gastroenterology* 1978;75:462-469.
110. Rosen HM, Yoshimura N, Hodgman JM, Fischer JE. Plasma amino acid patterns in hepatic encephalopathy of differing etiology. *Gastroenterology* 1977;72:483-487.
111. Rossi-Fanelli F, Riggio O, Cangiano C, et al. Branched-chain amino acids vs. lactulose in the treatment of hepatic coma. A controlled study. *Dig Dis Sci* 1982;27:929-935.
112. Rudman D, Kutner M, Ansley J, Jansen R, Chipponi J, Bain RP. Hypotyrosinemia hypocystinemia, and failure to retain nitrogen during total parenteral nutrition of cirrhotic patients. *Gastroenterology* 1981;81:1025-1035.
113. Schafer DF, Anthony Jones E. Hepatic encephalopathy and the y-aminobutyric acid neurotransmitter system. *Lancet* 1982;i:18-20.
114. Schwartz R, Philips GB, Seegmiller E, Gabuzda GJ, Davidson CS. Dietary protein in the genesis of hepatic coma. *N Eng J Med* 1954;251:685-689.
115. Sherlock S. Diseases of the liver and biliary system. Blackwell Scientific Publications. 6th.ed. Oxford 1981:103.
116. Sherlock S, Summerskill WHJ, Dawson AM. The treatment and prognosis of hepatic coma. *Lancet* 1956;ii:689-694.
117. Sherlock S, Summerskill WHJ, White LP, et al. Portal-systemic encephalopathy: neurological complications of liver disease. *Lancet* 1954;ii:453-457.

118. Sherwin RS, Fisher M, Bessoff J, et al. Hyperglucagonemia in cirrhosis: altered secretion and sensitivity to glucagon. *Gastroenterology* 1978;74:1224-1228.
119. Shetty PS, Watrasiewicz KE, Jung RT, James WPT. Rapid-turnover transport proteins: and index of subclinical protein-energy malnutrition. *Lancet* 1979;ii:230-232.
120. Silk DBA. Malnutrition in liver disease and its relationship to hepatic encephalopathy. *Acta Chir Scand* 1981;suppl.507:106-111.
121. Sim AJW, Wolfe BM, Young VR, Clarke D, Moore FD. Glucose promotes whole-body protein synthesis from infused aminoacids in fasting man. *Lancet* 1979;i:68-72.
122. Smith-Laing G, Sherlock S, Faber OK. Effects of spontaneous portal-systemic shunting on insulin metabolism. *Gastroenterology* 1979;76:685-690.
123. Soeters PB, Fischer JE. Insulin, glucagon, aminoacid imbalance, and hepatic encephalopathy. *Lancet* 1976;ii:880-882.
124. Sprinson DB, Rittenberg D. The role of interaction of the amino acids of the diet with the tissue proteins. *J Biol Chem* 1949;180:715-726.
125. Uribe M, Marquez MA, Ramos GG, et al. Treatment of chronic portal systemic encephalopathy with vegetable and animal protein diets. A controlled crossover study. *Dig Dis Sci* 1982;27:1109-1116.
126. Vilstrup H. Synthesis of urea after stimulation with amino acids: relation to liver function. *Gut* 1980;21:990-995.
127. Wahren J, Denis J, Desurmont P, et al. Is intravenous administration of branched chain amino acids effective in the treatment of hepatic encephalopathy ? A multicenter study. *Hepatology* 1983;3:475-480.
128. Wallace WM. Nitrogen content of the body and its relation to retention and loss of nitrogen. *Fed Proc* 1959;18:1125-1130.
129. Waterlow JC, Golden MHN, Garlick PJ. Protein turnover in man measured with ¹⁵N: comparison of end products and dose regimes. *Am J Physiol* 1978;225:E165-174.
130. Waterlow JC, Jackson AA. Nutrition and protein turnover in man. *Br Med Bulletin* 1981;37:5-10.
131. Waterlow JC. End product methods for measuring protein turnover in man. in: Soeters PB, Wesdorp RFC, ed. *Clinical Nutrition '81*. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne, New York, 1982:35-41.

132. Waterlow JC. ¹⁵N end-product methods for the study of whole body protein turnover. Proc. Nutr. Soc. 1981;40:317-320.
133. Watson PE, Watson ID, Batt RD. Total body water volumes for adult males and females estimated from simple anthropometric measurements. Am J Clin Nutr 1980;33:27-39.
134. Weber FL. The effect of lactulose on urea metabolism and nitrogen excretion in cirrhotic patients. Gastroenterology 1979;77:518-523.
135. Weber FL, Reiser BJ. Relationship of plasma amino acids to nitrogen balance and portal-systemic encephalopathy in alcoholic liver disease. Dig Dis Sci 1982;27:103-110.
136. World Health Organisation Technical Report Series no.522. Energy and protein requirements. Geneva 1973.
137. World Health Organisation Technical Report Series no.301. Protein requirements. Geneva 1965.
138. Young VR, Haverberg LN, Bilmazes C, Munro HN. Potential use of 3-methylhistidine excretion as an index of progressive reduction in muscle protein catabolism during starvation. Metabolism 1973;22:1429-1436.
139. Young VR, Munro HN. N-methylhistidine (3-methylhistidine) and muscle protein turnover: an overview. Federation Proc 1978;37:2291-2300.
140. Zieve L. The mechanism of hepatic coma. Hepatology 1981;1:360-365.
141. Zieve L, Doikaki WM. Brain and blood methanecol and ammonia concentrations in experimental hepatic coma and coma due to injections of various concentrations of these substances. Gastroenterology 1980;79:1070.
142. Zieve L. In: Schiff L and Schiff ER eds. Diseases of the liver. 5th edition. JB Lippincott, Comp, Philadelphia, Toronto 1982.
143. Zoli M, Marchesini G, Dondi C, Bianchi GP, Pisi E. Myofibrillar protein catabolic rates in cirrhotic patients with and without muscle wasting. Clin Sci 1982;62:683-686.

VERANTWOORDING.

Van velen heb ik hulp ontvangen bij het uitvoeren en bewerken van het thans beschreven onderzoek; een aantal van hen wil hier met name noemen.

In de eerste plaats wil ik mijn respect uitspreken voor de patienten die het opbrachten zich zo lang te schikken in het strakke leefpatroon dat het verrichten van balansonderzoek nu eenmaal vraagt.

Prof.Dr.M. Frenkel was het die mijn belangstelling voor de voedingsproblemen van patienten met levercirrhose wekte en die mij opmerkzaam maakte op de gepostuleerde relatie tussen voeding, aminozuurmetabolisme en portosystemische encephalopathie. Ik ben hem erkentelijk voor de grote mate van vrijheid, die hij mij liet bij het uitvoeren van het onderzoek. Zijn snelle bereikbaarheid voor overleg en advies tijdens het onderzoek en met name ook bij het opschrijven van de resultaten, heb ik zeer gewaardeerd.

Wim van den Berg is vanaf de eerste dag betrokken geweest bij het filosoferen over de problematiek en het maken van plannen voor het onderzoek. Hij heeft mij wegwijs gemaakt in het laboratorium. Zeer veel tijd heeft hij besteed aan overleg en aan het begeleiden van het werk op het laboratorium. Zijn optimisme was bemoedigend en soms ook noodzakelijk. Hiervoor en ook voor zijn steun in de allerlaatste fase ben ik hem dankbaar.

Vrijwel alle medewerkers van het laboratorium Inwendige Geneeskunde II hebben in enigerlei vorm aan het onderzoek meegeholpen; ik heb hun hulp zeer gewaardeerd. Twee van hen wil ik hier met name noemen. Triniet Rietveld heeft met grote inzet en zeer consentieus gewerkt om de aminozuurbepalingen te laten slagen en om de meting van de eiwitturnover te helpen starten. Darcos Wattimena heeft daarbij intensief geholpen. Het is met name aan hem te danken dat in de laatste fase van het onderzoek de eiwitturnover meting zo goed is geslaagd en zo snel en accuraat is uitgevoerd.

Grote dank ben ik verschuldigd aan de afdeling Heelkunde en met name aan Kije Bruining die mij in staat stelde gebruik te maken van de massaspectrometer van de chirurgische intensive care unit; deze hulp heeft het eiwitturnover onderzoek mogelijk gemaakt.

De zorg voor de patienten vond tijdens het balansonderzoek geheel en bij het turnover onderzoek grotendeels plaats op de balansafdeling. Joke van Vuure was een geweldige hulp bij het berekenen en verzorgen van de diëten, bij de organisatie van het onderzoek en bij het verzamelen van de resultaten. De dagelijkse zorg voor de patienten werd grotendeels gegeven door Marijke Hengeveld en Henny van der Stel- van de Berg. Cootje van Aller was daarbij behulpzaam en zorgde voor het bloedprikken, voor verzamelen van de verschillende materialen en bovendien deed zij een deel van de chemische analyses.

Hulp van de apotheek bij het formuleren van de aminozuurmengsels kreeg ik van de heer P.J.H. Eggels.

De controle personen bij het turnover onderzoek ben ik dank verschuldigd voor hun bereidheid een dag lang hun culinaire belangstelling te vergeten.

Op de eigen afdeling hebben velen mij gesteund. Solko Schalm hielp mij bij het vinden van patienten voor het balansonderzoek. Paul Wilson was in de wandelgangen een steeds goed benaderbare en frequent geraadpleegde vraagbaak. Voor de hulp bij het vormgeven aan dit proefschrift bedank ik graag Ellis van der Waarde-Masthoff en Ivonne Pijpers-Benner.

Tenslotte ben ik Prof.Dr.J.C. Birkenhäger, Prof.Dr.W.C. Hülsmann en Prof.Dr.D.L. Westbroek erkentelijk voor hun kritische beoordeling van het manuscript.

CURRICULUM VITAE.

De schrijver van dit proefschrift werd in 1942 in Bussum geboren.

In 1960 behaalde hij het einddiploma gymnasium bèta aan het Grotius Lyceum te 's-Gravenhage.

In datzelfde jaar ving hij zijn studie in de Geneeskunde aan de Rijksuniversiteit te Leiden aan; het doctoraal examen werd in 1965 aldaar afgelegd, het artsexamen in 1968.

Tijdens de vervulling van de militaire dienstplicht werkte hij als assistent op de afdeling röntgenologie van het Centraal Militair Hospitaal te 's-Gravenhage (Hoofd: W. Fiorani, röntgenoloog).

Na ontslag uit de militaire dienst nam hij waar in huisartspraktijken te 's-Gravenhage, Bonaire N.A. en Sint Maarten N.A.

Op 1 mei 1970 startte hij met de opleiding tot internist. Gedurende het eerste jaar van deze opleiding werkte hij in het St.Elisabeth Hospitaal te Curacao N.A.(opleider: Dr.L.W. Statius van Eps, internist), de volgende 4 jaar in de Interne kliniek van het Academisch Ziekenhuis Groningen (opleider: Prof.Dr.E. Mandema, internist). Op 1 juli 1975 volgde zijn inschrijving als internist in het specialistenregister.

Vanaf diezelfde dag werkt hij in het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt als chef de clinique op de afdeling Inwendige Geneeskunde II (Hoofd: Prof.Dr.M. Frenkel). Op deze afdeling werd het voorliggende proefschrift bewerkt.

